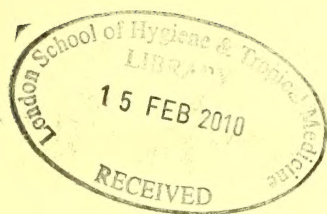




Handbuch der pathogenen Mikroorganismen

Unter Mitwirkung von

Geh. Ober-Medizinalrat Dr. **Rudolf Abel**, Berlin; Prof. Dr. **Apolant**, Frankfurt a. M. Geh. Hofrat Prof. Dr. **Th. Axenfeld**, Freiburg i. Br.; Prof. Dr. **V. Babes**, Bukarest; Stabsarzt Dr. **Walter Bierast**, Halle a. S.; Stabsarzt Dr. **Boehncke**, Frankfurt a. M.; städt. Ober-Tierarzt Dr. **J. Bongert**, Berlin; Dr. **H. Braun**, Berlin; Prof. Dr. **C. Bruck**, Breslau; Prof. Dr. **H. Bruns**, Gelsenkirchen; Prof. Dr. **E. Bürgi**, Bern; Prof. Dr. **Buschke**, Berlin; Prof. Dr. **Calmette**, Lille; Ober-Tierarzt Dr. **S. Carl**, Karlsruhe i. B.; Dr. **H. Carrière**, Bern; Prof. Dr. **M. Casper**, Breslau; Prof. Dr. **H. Conradi**, Frankfurt a. M.; Prof. Dr. **G. Cornet**, Berlin-Reichenhall; Ministerialrat Prof. Dr. **Dieudonné**, München; Privat-Dozent Regimentsarzt Dr. **R. Doerr**, Wien; Prof. Dr. **F. Doflein**, Freiburg i. Br.; Prof. Dr. **Dujardin-Beaumetz**, Paris; Wirkl. Geh. Rat Exzellenz Prof. Dr. **P. Ehrlich**, Frankfurt a. M.; Prof. Dr. **van Ermengem**, Gent (Belgien); Dr. **Eyre**, Guy's Hospital, London; Prof. Dr. **M. Ficker**, Berlin; Stabsarzt Dr. **W. Forner**, Berlin-Halensee; Prof. Dr. **E. Friedberger**, Berlin; Prof. Dr. **U. Friedemann**, Berlin; Stabsarzt Prof. Dr. **Fülleborn**, Hamburg; Dr. **H. A. Gins**, Frankfurt a. M.; Prof. Dr. **Fr. Glage**, Hamburg; Prof. Dr. **E. Gotschlich**, Alexandrien; Prof. Dr. **Gougerot**, Paris; Reg.-Rat Prof. Dr. **Haendel**, Berlin; Prof. Dr. **M. Hahn**, Freiburg i. Br.; Dr. **Hallwachs**, Zeven; Prof. Dr. **M. Hartmann**, Berlin; Dr. **O. Hartoch**, St. Petersburg-Bern; Privat-Dozent Dr. **O. Heller**, Dresden; Oberstabsarzt Dr. **Hetsch**, Freiburg i. Br.; Prof. Dr. **B. Heymann**, Berlin; Prof. Dr. **von Hibler** †, Innsbruck; Oberstabsarzt Prof. Dr. **Hübener**, Berlin; Hofrat Prof. Dr. **Hutyra**, Budapest; Prof. Dr. **M. Jacoby**, Berlin; Prof. Dr. **Jadassohn**, Bern; Prof. Dr. **C. O. Jensen**, Kopenhagen; Prof. Dr. **G. Jochmann**, Berlin; Ober-Medizinalrat Prof. Dr. **Joest**, Dresden; Dr. **Victor Jollos**, München; Prof. Dr. **Kartulis**, Alexandrien; Dr. **Fr. Keysser**, Berlin; Prof. Dr. **Kitt**, München; Prof. Dr. **Josef Koch**, Berlin; Dr. **Otto Köhler**, München; Prof. Dr. **W. Kolle**, Bern; Prof. Dr. **H. Kossel**, Heidelberg; Prof. Dr. **R. Kraus**, Wien; Dr. **Krumbein**, Bern; Prof. Dr. **E. Küster**, Freiburg i. Br.; Stabsarzt Dr. **Kutscher**, Berlin; Prof. Dr. **K. Landsteiner**, Wien; Dr. **Lange**, Berlin; Prof. Dr. **O. Lentz**, Saarbrücken; Dr. **J. Leuchs**, Würzburg; Prof. Dr. **W. von Lingelsheim**, Beuthen (Ober-Schlesien); Dr. **B. Lipschütz**, Wien; Dr. **E. Loewenstein**, Wien; Dr. **Loewenthal**, Berlin; Prof. Dr. **A. Looss**, Cairo; Prof. Dr. **A. Lustig**, Florenz; Dr. **Martin Mayer**, Hamburg; Prof. Dr. **El. Metschnikoff**, Paris; Dr. **K. F. Meyer**, Philadelphia; Prof. Dr. **G. Michaelis**, Berlin; Prof. Dr. **J. Morgenroth**, Berlin; Marine-Oberstabsarzt Prof. Dr. **Mühlens**, Hamburg; Prof. Dr. **M. Neisser**, Frankfurt a. M.; Prof. Dr. **F. Neufeld**, Berlin; Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **von Ostertag**, Berlin; Physikus Dr. **M. Otto**, Hamburg; Stabsarzt Prof. Dr. **R. Otto**, Hannover; Hofrat Prof. Dr. **Paltauf**, Wien; Prof. Dr. **J. Petruschky**, Danzig; Prof. Dr. **Ernst P. Pick**, Wien; Dr. **H. C. Plaut**, Hamburg; Dr. **Kurt Poppe**, Berlin; Priv.-Doz. Dr. **C. Prausnitz**, Breslau; Prof. Dr. **H. Preisz**, Budapest; Priv.-Doz. Dr. **Ernst Přibram**, Wien; Dr. **H. Reiter**, Berlin; Dr. **Hans Ritz**, Frankfurt a. M.; Priv.-Doz. Dr. **M. Rothermundt**, Bern; Marine-Generalarzt Prof. Dr. **Reinhold Ruge**, Kiel; Prof. Dr. **Hans Sachs**, Frankfurt a. M.; Prof. Dr. **Scheller**, Breslau; Prof. Dr. **Claus Schilling**, Berlin; Prof. Dr. **M. Schlegel**, Freiburg i. Br.; Priv.-Doz. Dr. **W. Schürmann**, Bern; Prof. Dr. **Sobernheim**, Berlin; Priv.-Doz. Dr. **C. Stäubli**, Basel; Dr. **Steffenhagen**, Berlin; Dr. **Robert Stein**, Wien; Dr. **Titze**, Berlin; Dr. **E. Tomarkin**, Bern; Prof. Dr. **Uhlenhuth**, Straßburg i. E.; Geh. Med.-Rat Prof. Dr. **A. von Wassermann**, Berlin; Dr. **M. Wassermann**, Berlin; Prof. Dr. **W. Weichardt**, Erlangen; Dr. **Weinberg**, Paris; Dr. **von Werdt**, Innsbruck; Geh. Medizinalrat Prof. Dr. **E. Wernicke**, Posen; Prof. Dr. **A. Wladimiroff**, St. Petersburg; Reg.-Rat Prof. Dr. **Zwick**, Berlin

Herausgegeben von

Dr. W. Kolle und **Dr. A. von Wassermann**

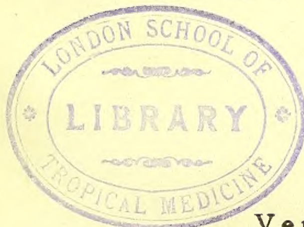
o. Professor der Hygiene u. Bakteriologie an der Universität und Direktor des Instituts zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern

ordentl. Honorar-Professor in der medizin. Fakultät der Universität Berlin, Geh. Med.-Rat

Zweite vermehrte Auflage

Zweiter Band. Erste Hälfte

Mit 30 zum Teil farbigen Abbildungen im Text

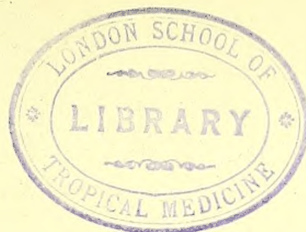






Jena
Verlag von Gustav Fischer
1913

469



Inhaltsverzeichnis.

(Zweiter Band. Erste Hälfte.)

I.

Methoden der aktiven Immunisierung einschliesslich Herstellung von Antigenen.

Von

Prof. Dr. **Martin Ficker**

in Berlin.

Mit 14 Figuren im Text.

Abgeschlossen am 15. Dezember 1911.

Eine aktive Immunität auf künstlichem Wege herbeizuführen ist mit den verschiedensten Maßnahmen möglich, deren prinzipiell wichtigste schon in den ersten Anfängen der experimentellen Immunitätsforschung geübt worden sind: schon PASTEUR impfte mit lebenden, abgeschwächten Krankheitserregern, SALMON & TH. SMITH, CHAMBERLAND & ROUX bedienten sich bereits mit Erfolg der abgetöteten Bakterienzellen und der keimfreien Kulturfiltrate.

Ein methodischer Ausbau dieser Verfahren erfolgte indessen erst, als die Reinkultivierung von Krankheitserregern zum Gemeingut wurde, als damit die exakte Abmessung der zu Impfzwecken dienenden Bakterien oder ihrer Produkte ermöglicht war und als fernerhin durch die Entdeckung der Antikörper Kriterien für den Immunisierungseffekt zur Verfügung standen.

Mit Hilfe dieser uns von R. KOCH, V. BEHRING, EHRLICH u. a. in die Hand gegebenen Mittel ist die Methodik der aktiven Immunisierung in kurzem Zeitraum in unübersehbar mannigfachen Variationen zur Anwendung gekommen, und noch sind die Forscher emsig an der Arbeit, neue zu suchen und die alten zu erweitern und zu verbessern.

Die Fähigkeit des Organismus, die künstliche Zufuhr der verschiedenartigsten körperfremden Substanzen mit der Bildung spezifisch bindender Schutz- und Reaktionsstoffe zu beantworten, ist eine vielseitigere, als man je geahnt hat: so ist die Methodik der aktiven Immunisierung heute über ihr ursprüngliches Ziel, den Schutz des Individuums herbeizuführen, weit hinausgewachsen und ermöglicht das Vordringen in die mannigfachsten biologischen Probleme.

Dieser Erweiterung der Aufgaben mußte auch der vorliegende Beitrag Rechnung tragen, der zwar in erster Linie die für die Schutzimpfung gegen Krankheitserreger, aber weiterhin auch die zur Gewinnung von Antikörpern empfohlenen Methoden berücksichtigt.

Bei näherem Zusehen ist die Ueberfülle der Methoden auf einige wenige, schon anfangs genannte Prinzipien zurückzuführen. Warum nun diese zahllosen Modifikationen und das andauernde Suchen nach weiteren?

Es kann in der Tat von keiner einzigen neuzeitlichen Methode der aktiven Immunisierung heute behauptet werden, daß sie nichts zu wünschen übrig lasse. Wir haben zwar gelernt, geradere und sicherere Wege zu gehen, aber noch immer muß man damit rechnen, daß schon geringe Abweichungen von einem sonst erprobten Verfahren den Erfolg in Frage stellen und daß ein anderes Mal das Festhalten an einem Schema zu Enttäuschungen führen kann.

Die Gründe für diese Unsicherheiten ergeben sich vor allem daraus, daß die spezifisch wirksamen Stoffe des Impfmaterials und der entstehenden Reaktionsprodukte uns chemisch unbekannt sind, daß das Antigen und der Antikörper liefernde Organismus, auch wenn wir peinlichst diejenigen Versuchsbedingungen innehalten, deren Gestaltung an uns liegt, nicht notwendig die gleichen sind, und daß als Folge der gegenseitigen Beeinflussung dieser Unbekannten das eine und andere Mal verschiedene Effekte sich ergeben können.

Selbst wenn es uns geglückt sein sollte, Antigene vergleichbarer Beschaffenheit im geeigneten Moment zur Anwendung zu bringen, so ist doch der nicht minder wichtige Faktor, der zu impfende Organismus, als eine in ihrer Kompliziertheit nicht immer konstante Größe hinzunehmen. Gerade dadurch, daß der verschiedenen Individualität nicht genügend Rechnung getragen worden ist, sind nicht so selten Methoden angepriesen worden, die alles andere als Paradigmata darstellen: der Wert von Immunisierungsmethoden läßt sich eben nur an großem Material bemessen. Und ohne Maß kein Wert: es ist deshalb hier auch darauf hinzuweisen, daß in bezug auf die Kontrolle des Impferfolges eine weitgehende Willkür herrscht. Es ist gewiß nicht leicht, die Grenze, an welcher die unspezifische Resistenz aufhört und die spezifische Immunität beginnt, zu finden: aber sie muß gezogen werden, wenn ein Verfahren beansprucht, eine Methode der Immunisierung genannt zu werden. Auch der Maßstab der Antikörperprüfung in vitro kann heute noch durchaus nicht als ein in jedem Falle zuverlässiger und zutreffender bezeichnet werden. Hier bleibt noch viel zu tun, wenn die Methodik der aktiven Immunisierung aus der Unsicherheit herauskommen soll.

Rechnet man zu alledem hinzu, daß manche der angegebenen, schwer kontrollierbaren Methoden noch dazu unzureichend beschrieben sind, so kann es nicht wunder nehmen, daß es heute unmöglich ist, eine kritische Sichtung der ganzen Materie vorzunehmen, es kann daher auch diese Darstellung zunächst nur einen Ueberblick über die wichtigeren, überhaupt angewandten Methoden bringen, wobei besonders erprobte hervorgehoben werden sollen.

Die Gliederung des Stoffes kann namentlich wegen der Unmöglichkeit, die einzelnen Antigene chemisch zu definieren, keine endgültige sein. Es wäre wohl übersichtlicher gewesen, die Methoden nach dem Ziel, das man mit ihnen verfolgt, einzuordnen (Schutzimpfung des Menschen, der Tiere, Antikörpergewinnung vom Tier usf.): da diese Verfahren indessen prinzipiell meist nicht verschieden sind, so muß es gerechtfertigt erscheinen, die Materie, die ja auch die Her-

stellung des Impfmaterials umfassen soll, in der Hauptsache nach der Beschaffenheit der Antigene zu gliedern.

Disposition.

A. Aktive Immunisierung.
- I. Mit lebenden, vollvirulenten Krankheitserregern.
- II. Mit abgeschwächten Krankheitserregern.
  - a) Abschwächung durch hohe Temperaturen.
  - b) Abschwächung durch Trocknen und andere physikalische Mittel.
  - c) Abschwächung durch chemische Mittel.
  - d) Abschwächung mittels Passage durch künstliche Nährböden.
  - e) Abschwächung mittels Tierpassage.
- III. Mit abgetöteten Krankheitserregern.
  - a) Abtötung durch Erwärmen.
  - b) Abtötung durch chemische Mittel.
- IV. Mit Extrakten.
- V. Mit Stoffwechselprodukten von Bakterien.
- VI. Mit Antigenen aus höheren Pflanzen.
- VII. Mit Antigenen tierischer Herkunft.
  - a) Tierische Toxine.
  - b) Ungiftige Antigene tierischer Herkunft. Gewinnung von Hämolysinen, Präzipitinen.
  - c) Immunisierung mit Protozoenmaterial.
- VIII. Mit Fermenten.

B. Weiteres über Antigene*).
- I. Art der Verabreichung.
- II. Dosierung.
- III. Qualität des Antigens: Virulenz, Bindungsvermögen, Nährbodeneinfluß.
- IV. Impfturnus.
- V. Konservierung von Antigenen.
- VI. Konzentrierung von Antigenen.

C. Kombinierte aktiv-passive Immunisierung.
- I. Serovaccination.
- II. Serotoxinimpfung.

D. Immunisierungsschemata für den Laboratoriumsgebrauch.

A. Aktive Immunisierung.

I. Immunisierung mit lebenden vollvirulenten Krankheitserregern.

Die Methode der Immunisierung mit lebenden vollvirulenten Krankheitserregern kommt in ihrer reinen Form sowohl für die Schutzimpfung als auch für die Antikörpergewinnung in Frage. Sie hat den Vorteil, daß sie sich eines unveränderten Antigens bedient, bei dessen Zusammentreffen mit dem Organismus eine dem natürlichen Immunisierungsvorgang entsprechende Reaktion erfolgen kann.

*) Reindarstellung von Antigenen s. Bd. I.

Das Bereich der Anwendung dieser Methode ist aber heute kein sehr großes.

Zunächst kommt jene Gruppe von Infektionen überhaupt in Wegfall, deren Erreger schon in geringsten Mengen tödliche Erkrankungen zu veranlassen vermögen.

Die relativ größte Sicherheit bietet die Methode dann, wenn ein dosierbares Antigen vorliegt, wenn dessen Virulenz bekannt ist und während des ganzen Immunisierungsverfahrens auf konstanter oder wenigstens bekannter Höhe gehalten werden kann. Aber auch dann muß man damit rechnen, daß besonders empfängliche Organismen einer Impfinfektion anheimfallen.

In der Regel eignen sich Kulturen auf künstlichen Nährböden am besten als Antigene für diese Methode.

Ueber Bestimmung der Virulenz, Aenderung der Virulenz, Erhaltung der Virulenz s. Bd. I, S. 529.

Kennt man die Dosis minima letalis des Virus, so wird eine solche untertödliche Dosis zur Erzeugung der Grundimmunität am geeignetsten sein, die noch Krankheitserscheinungen hervorruft. Wie weit die kleinste krankmachende Dosis von der kleinsten tödlichen entfernt ist, ersieht man meistens aus dem Virulenzbestimmungsversuch. Wegen der Verschiedenheit der Empfänglichkeit auch von Versuchstieren gleicher Art und gleichen Gewichts wird man zur Erzeugung der Grundimmunität nicht zu nahe an die tödliche Dosis herangehen und von vornherein mehrere Tiere impfen.

Die 2. Impfung wird vorgenommen, wenn alle Krankheitserscheinungen verschwunden sind und die Tiere an Gewicht wieder zunehmen, in der Regel ist das nach etwa 8 Tagen der Fall. Man steigert da die Antigenmenge auf das Doppelte, wartet wieder und steigert abermals (s. S. 152).

Erhebliche Unsicherheit tritt dann ein, wenn wegen der Kostspieligkeit des Tiermaterials Virulenzbestimmungen nicht vorgenommen werden können, dann wird man zwar empirisch doch zu einer Dosierung des Impfstoffes gelangen, Verluste sind aber unvermeidlich, zumal wenn unberechenbare Virulenzschwankungen auftreten.

Sind ferner die Erreger nicht züchtbar oder unbekannt, so vermindern sich ebenfalls die Sicherheitschancen der Impfung: es kann ungenügende Immunität oder aber gefahrbringende Infektion die Folge sein. Empirisch ist dann zu ermitteln, welche Tierart einen Impfstoff von gleichmäßiger Beschaffenheit liefert, dabei sind das Alter der Tiere, typischer Verlauf der Erkrankung, Tag der Impfstoffentnahme im Verlaufe oder nach dem Verlauf der Krankheit zu berücksichtigen.

Wie das Beispiel der Rinderpest lehrt, sind dann trotz der Mangelhaftigkeit der Methode brauchbare Impfresultate zu erzielen.

Ein weiterer Nachteil der Impfung mit vollvirulenten Krankheitserregern besteht darin, daß virulente Krankheitserreger bei dem Akt der Impfung, vor allem aber durch die Tiere selbst, namentlich wenn sie erkranken, propagiert werden können, so daß eine Gefahr für die Umgebung besteht. Diese Gefahr kann unter Umständen sehr lange andauern, wenn der Organismus dadurch zum Parasitenträger wird.

Beispiel: Bei der Schutzimpfung gegen Hämoglobinurie der Rinder werden die vorbehandelten Rinder parasitenhaltig und können pa-

rasitenhaltiges Blut an Zecken liefern, in deren Organismus der Parasit zu höherer Virulenz gelangen kann. Diese Gefahr läßt sich einigermaßen einschränken, wenn die Schutzimpfungen in einer den Zecken ungünstigen Jahreszeit erfolgen, aber gänzlich beseitigt wird die Gefahr damit nicht.

Es fehlen noch ausreichende planmäßige Versuche über die Persistenz lebender, als Antigen benutzter virulenter Krankheitserreger in dem der Schutzimpfung unterzogenen Organismus (vgl. hierzu S. 26, 28 und S. 32). Können sie unter Umständen die aktive Immunität überdauern?

Diese Fragen sind auch dann zu erheben, wenn es sich nicht um die alleinige Immunisierung mit vollvirulentem Material handelt, sondern wenn durch irgendein anderes voraufgehendes Verfahren eine gewisse Stufe der Immunität erreicht ist und nun zu ihrer weiteren Steigerung virulentes Antigen eingeführt wird.

Es kommen für die Persistenz der Erreger die verschiedensten Faktoren in Betracht: die Eigenart der verimpften Bakterienart und Eigentümlichkeiten des verwendeten Stammes, ferner Tierart und individuelles Verhalten, weiterhin auch der Applikationsmodus.

Uebrigens ist die Methode der Impfung mit virulentem Material in manchen Fällen unschuldigerweise in Mißkredit gekommen, es ist erwiesen, daß Tiere, die nach der Impfung eingingen, schon vor der Impfung infiziert waren, und im Stadium der Inkubation sich befanden (Kolle & Turner bei Rinderpest).

Von besonderer Wichtigkeit bei dieser Methode ist der Ort der Applikation, ja, sie wird oft überhaupt erst anwendbar, wenn man den natürlichen Infektionsweg vermeidet. Es ist eine Impfstelle auszuwählen, an welcher die Wachstumsbedingungen für den eingebrachten Infektionserreger ungünstiger sind: die Beschaffenheit bestimmter Gewebe oder Gewebsstellen ermöglicht die Verzögerung der Resorption, damit wird dem geimpften Organismus Zeit gelassen, sich zu schützen und eventuell den Impfherd dauernd oder wenigstens eine Zeitlang abzugrenzen. Beispiele für solche Auswahl von Impfstellen, die dem Virus ungünstigere Vermehrungschancen als bei der natürlichen Infektion, z. B. von den Schleimhäuten aus, bieten, sind die Variolation (kutan), Choleraschutzimpfung (subkutan), Schutzimpfung der Rinder gegen Lungenseuche (Schwanzspitze). — Vgl. hierzu das Kapitel: Art der Antigenverabreichung, S. 128.

Beispiele der Schutzimpfung mit virulenten Erregern.

a) Bakterien.

1. Zum ersten Male mit lebenden virulenten Bakterienkulturen Grundimmunität erzeugt zu haben, ist das Verdienst Ferrans, der Meerschweinchen subkutan mit Cholerabouillonkulturen behandelte und sie damit gegen tödliche Mengen der virulenten Kultur schützte. Planmäßig konnten diese Versuche aber erst fortgeführt werden, als von R. Pfeiffer & A. Wassermann die Wirkung fallender Mengen vollvirulenter Cholerakulturen auf das Meerschweinchen exakt beobachtet worden war.

Am Menschen hat Ferran (1884) ebenfalls durch subkutane Verabreichung lebender Cholerakultur Immunität hervorzurufen versucht, er verabreichte 8 Tropfen einer mit Galle (nach van Ermengem) versetzten Cholerabouillonkultur in die Gegend des Triceps, nach 6—8 Tagen 0,5 ccm, nach dem gleichen Intervall nochmals 0,5 ccm. Ferran stellte fest, daß die Choleravibrionen in der Subcutis zugrunde gingen und daß nur leichte Krankheitserscheinungen sich einstellten (lokale Entzündung, Fieber).

Im übrigen ist ein methodisches Vorgehen bei FERRAN zu vermissen, seine Versuche entbehren der nötigen Grundlage, auch hat er mit unreinen Kulturen gearbeitet.

Einen größeren Wert haben die Versuche HAFFKINES, mit lebenden Choleravibrionen beim Menschen aktive Immunität hervorzurufen, erlangt, sie richten sich nach dem unten zu behandelnden Schema der PASTEURschen Schutzimpfungen, das Vaccin I der HAFFKINEschen Choleraschutzimpfung ist ein abgeschwächtes.

Hier ist anzureihen die Modifikation des HAFFKINEschen Verfahrens zur Choleraschutzimpfung des Menschen, wie sie POWEL sowie BROWN anwandten: sie ließen Vaccin I ganz fort und impften allein mit dem für Meerschweinchen hochvirulenten Vaccin II. Im übrigen hielten sie sich (Dosierung, Applikation) an die HAFFKINEsche Methode, die Erscheinungen waren die gleichen.

2. Tuberkulose. Eine aktive Immunisierung mit virulenten Tuberkelbacillen ist in einigen Fällen mit Erfolg bei tuberkulösen Tieren vorgenommen worden.

Diese Beobachtungen gehen auf R. KOCH[1] zurück. Er schildert schon 1891, wie sich tuberkulöse Meerschweinchen gegenüber einer Reinfektion anders verhalten als gesunde. Impft man gesunde Meerschweinchen mit virulenten Tuberkelbacillen (Reinkultur), so entsteht nach 10—14 Tagen ein derbes Knötchen, das bald aufbricht und bis zum Tode des Tieres eine ulzerierende Stelle bildet. Impft man aber Meerschweinchen, die nach Impfung seit 4—6 Wochen tuberkulös sind, so bildet sich kein Knötchen, sondern schon am nächsten oder 2. Tage ein flaches Infiltrat, das dunklere Färbung annimmt und nekrotisiert, nach erfolgter Abstoßung heilt das flache Geschwür prompt ab.

Wie P. RÖMER[1] zeigte, ist der Effekt der Reinfektion ganz von der Dosierung abhängig: werden tuberkulöse Versuchstiere mit großen Dosen Tuberkelbacillen behandelt, so gehen sie zugrunde; ist die Dosis der Reinfektion niedrig, so läßt sich Immunität nachweisen. Uebersichtliche Zusammenstellung s. RÖMER[2]. Die Immunität war bei subkutaner, kutaner, intrakutaner Reinjektion der Meerschweinchen wahrnehmbar.

Am Rind ist das gleiche von v. BEHRING & RÖMER nachgewiesen, beim Schaf von RÖMER — hier ist auch bei intravenöser Nachinfektion die Immunität zu erkennen —, bei Affen von KRAUS & GROSS usf.

Zur Demonstration dieser Immunisierung können nach RÖMER Meerschweinchen verwendet werden, die seit 3—4 Monaten chronisch tuberkulös sind. Erhielten diese Tiere subkutan z. B. $^1/_{10000}$ mg Schweinetuberkelbacillen (eine Dosis, die gesunde Meerschweinchen schwer tuberkulös erkranken ließ), so ertrugen sie diese Dosis ohne irgendwelche Folgeerscheinungen.

3. Schutzimpfung gegen Lungenseuche nach WILLEMS s. Bd. I bei KOLLE.

Impfstoff: Saft aus frisch hepatisierten Stellen der Lunge eines im ersten Stadium erkrankten Rindes. Impfung subkutan auf Rückseite des Schwanzes, 8 cm von der Spitze entfernt.

Modifikation von MARTIN: Verwendung eines dünnen, mit Lymphe getränkten Haarseils.

b) Protozoenkrankheiten.

1. Bei Küstenfieber (Rhodesia redwater) erreicht man aktive Immunität nach R. Koch[6] entweder durch 3—4malige Injektion von parasitenhaltigem Blut (Piroplasma parvum) in 14—21-tägigen Zwischenräumen in steigenden Dosen (bis 2000 ccm) oder einfacher durch 6—13 Injektionen von je 10 ccm Blut in 14-tägigen Zwischenräumen. Das Blut wird durchseuchten („gesalzenen") Tieren entnommen. Eine einmalige Injektion erzeugt keine Immunität.

2. Bei Texasfieber (Hämoglobinurie der Rinder) verwendet man das sogen. „recovered blood", in Dosen von 5—10 ccm subkutan. Zur Impfung eignen sich nur junge Tiere (bis zu 12 Monaten), es entsteht eine leichte Piroplasmeninfektion, die Immunität hinterläßt. Verluste sind dabei unvermeidlich, da die Zahl der verimpften Piroplasmen, ihre Virulenz und die Disposition des Impflings unbekannt sind. Auf jeden Fall aber sind die Erfolge dieser künstlichen Immunisierung immer noch günstiger, als wenn man die ungeimpften Tiere der natürlichen Infektion (durch Zecken) aussetzt.

c) Krankheiten mit unbekannten Erregern.

1. Die älteste Methode der aktiven Immunisierung mit vollvirulentem Material ist die Variolation. Vgl. hierzu Bd. VI.

2. Rinderpestimmunisierung. Nach R. Koch[3, 4, 5] werden etwa 10 ccm Galle von Tieren, welche an Rinderpest verendet sind, gesunden Tieren subkutan eingespritzt. Abszesse können entstehen, wenn die Galle nicht frisch ist. Sonst entstehen nur Infiltrationen ohne erheblichere Krankheitserscheinungen. Der Eintritt der Immunität erfolgt zeitigstens am 5. Tage, in voller Stärke ist er vom 10. Tage ab nachweisbar. Der Impfstoff eignet sich am besten, wenn er Tieren entnommen wird, die am 5.—6. Tage der Erkrankung eingingen oder getötet wurden. S. ferner Kolle & Turner. Daß dieser Gallenimpfstoff die vollvirulenten Erreger der Rinderpest enthält, zeigte Kolle[1, 2, 3], der die Galle zentrifugierte, den Bodensatz wusch und subkutan Rindern injizierte, sie erkrankten an Rinderpest. Warum die Injektion der Rinderpestgalle nicht zur Infektion, sondern zur Immunität führt, ist noch nicht klargelegt. Kolle meint, daß in der Galle Stoffe zu suchen sind, die den Rinderpesterreger hindern, eine Allgemeininfektion zu veranlassen, es komme nur zu einer lokalen Rinderpestinfektion. Die Rinderpestgalle bewahrt, steril aufgefangen, im Dunkeln und Eisschrank ihre Wirkung bis zu 10 Tagen, bei Zimmertemperatur nur 3—5 Tage, sie kann auch noch als Impfstoff dienen, wenn sie mit virulentem Blut vermischt wird.

Da die Immunität nach der Kochschen Methode eine genügend starke und langandauernde ist, so erübrigt sich eine weitere Impfung, wie sie von Kohlstock vorgeschlagen wurde, der die mit Galle geimpften Tiere 4 Wochen später noch mit virulentem Blut behandelte. Kolle zeigte, daß damit eine Steigerung der durch Rinderpestgalle herbeigeführten Immunität nicht eintritt.

Eggebrecht immunisierte in China mit gutem Erfolg die Rinder gegen Rinderpest durch subkutane Injektion von 10 ccm Galle rinderpestkranker Tiere, 10 Tage später impfte er 1 ccm virulenten Rinderpestblutes.

Ochsen, die zur Serumgewinnung dienten, wurden in gleicher Weise vorbehandelt, erhielten dazu aber — nach Rückgang aller Erscheinungen — in mehrtägigen Pausen 20 ccm, 1, 2, 3 und 5 Liter Rinderpestblut. Bei Verabreichung der größeren Dosen traten Oedeme auf außer der nach jeder Injektion erfolgenden Temperaturerhöhung.

3. Ein Beispiel für die aktive Immunisierung durch Verabreichung kleinster, allmählich ansteigender Dosen bei nicht züchtbarem Virus ist die von Högyes geübte Schutzimpfung gegen Lyssa: er beginnt die Immunisierung mit hochgradig verdünntem Virus. (Von dem verlängerten Mark eines nach Infektion mit Virus fixe getöteten Kaninchens wird 1 Teil mit 100 Teilen physiologischer Kochsalzlösung verrieben. Diese Stammlösung wird dann von 1:200 bis 1:10000 verdünnt. Injektion steigender Konzentrationen. Dilutionsmethode.)

4. Hierher gehört auch die Immunisierung von Mauleseln gegen die afrikanische Pferdesterbe.

Rickmann[2] injizierte in Zwischenpausen von 10 Tagen 0,0005, 0,001, 0,005, 0,01, 0,1, 1 ccm des Sterbevirus subkutan und schließlich 1 ccm intravenös. (Die Zumischung von 5 ccm einer 1-proz. Karbolsäurelösung $^1/_4$ Stunde vor der Impfung zu den Virusdosen bis zu 0,1 ccm hat nach Leipziger keine Verminderung der Virulenz zur Folge.)

Stößt man so i. A. auf große Schwierigkeiten, die Immunisierung allein mit virulentem Antigen durchzuführen, so ist doch diese energische Behandlung von größtem Vorteil im Anschluß an andere Methoden, welche schon einen gewissen Grad von Immunität herbeigeführt hatten. Ja, in vielen Fällen ist dann die Verabreichung des virulenten Materials überhaupt erst geeignet, den vollwertigen Schutz gegen die natürliche Infektion oder eine zweckdienliche qualitative und quantitative Antikörperausbeute herbeizuführen.

Eine besonders zuverlässige Grundimmunität wird bei verschiedenen Krankheiten durch das natürliche Ueberstehen der Infektion verliehen, auf der man nun durch weitere Verabreichung von virulentem Material weiter aufbauen kann, um einen noch höheren Grad der Immunität zu erzielen. Das ist z. B. möglich bei Schweinepest.

Schon Preisz entnahm von einem Schweine, das seit 3 Wochen die Schweinseuche überstanden hatte, Serum zu Schutzimpfungszwecken und beobachtete bei einem Teil der geimpften Tiere günstige Resultate. — Uhlenhuth ist der Meinung, daß diese Schutzimpfung keine passive, sondern eine aktive gewesen ist. Das Serum konnte abgeschwächtes Virus enthalten haben. — Systematische Versuche in der erwähnten Richtung nahmen in Amerika Dorset, McBryde und Niles, in Deutschland Uhlenhuth, in Ungarn Hutyra und Wetzl vor.

Die amerikanischen Autoren wählten Schweine aus, die die Krankheit überstanden oder sich bei Seucheausbrüchen widerstandsfähig gezeigt hatten.

Dorsets Methoden zur Gewinnung von Schweinepestserum.

1. Quick method. Diese Tiere erhielten auf einmal 900—1500 ccm virulenten Blutes subkutan. Blutentnahme nach 3 Wochen, 4 Wochen, 5 Wochen.

2. Slow method. Die ausgewählten Tiere erhielten in 3—4- oder mehrwöchentlichen Pausen allmählich von 100 ccm bis auf 500—900 ccm ansteigende Dosen virulenten Blutes ebenfalls subkutan. Dreimalige Injektion. Blutentnahme 9—10 Tage nach der letzten Impfung.

Auf demselben Prinzip beruht die von Uhlenhuth-Hübener ausgearbeitete Methode, die Abweichungen sind wiedergegeben bei Uhlenhuth-Hübener.

Beispiel der Höhertreibung der Immunität zum Zwecke der Schutzserumgewinnung bei einem Schweine, das die natürliche Schweinepest überstanden. UHLENHUTH-HÜBENER-XYLANDER-BOHTZ.)

27. April 25 ccm filtrierter Organsaft + Serum subkutan
16. Mai 30 „ „ „ „ „
31. „ 55 „ defibriniertes Blut subkutan
15. Juni 30 „ „ „ intravenös
4. Juli 50 „ „ „ „
18. „ 100 „ „ „ „
5. Aug. Schlachtung (Gewicht 50 kg).

HUTYRA & WETZL bevorzugen 60—80 kg schwere Tiere, die die Krankheit ebenfalls überstanden haben. Diesen werden 500 ccm defibrinierten Blutes eines sicher pestkranken Schweines möglichst sofort nach der Entnahme eingespritzt. Das defibrinierte Blut filtrieren sie durch Gaze. Die Injektion erfolgt subkutan an verschiedenen Stellen (die Spritze faßt 40—50 ccm Flüssigkeit). Nach 3 Wochen Wiederholung mit einer größeren Blutmenge. Die so vorbehandelten Tiere liefern noch nach $^1/_2$ Jahr ein hochwertiges Immunserum. Man erreicht durch eine abermalige Injektion von 500 ccm virulenten Blutes noch eine Steigerung des Antikörpergehaltes. Blutentnahme zur Serumgewinnung bei Immuntieren darf zeitigstens 3 Wochen nach der letzten Impfung erfolgen.

Die aktive Immunisierung mit filtrierbarem Virus schließt sich in ihrer Methodik den bisher erwähnten an.

Als Beispiel einer solchen mit filtriertem Virus hervorgerufenen Immunität sei die gegen Schweinepest zum Zweck der Gewinnung wirksamen Serums erwähnt.

Nachdem durch DE SCHWEINITZ, DORSET u. a. festgestellt war, daß bei der Schweinepest das Ueberstehen der natürlichen oder künstlich mit filtrierbarem Virus hervorgerufenen Krankheit Immunität gegen natürliche Ansteckung oder künstliche Infektion im Gefolge hat, sind systematische Versuche u. a. von HUTYRA, ferner UHLENHUTH-HÜBENER-XYLANDER-BOHTZ angestellt worden.

Beispiel der Immunisierung (HUTYRA):

Ein Ferkel erhielt am 9. März 1906 subkutan 1,5 ccm filtriertes pericardiales Exsudat, am 12. April 1906 die erkrankte Lunge eines Schweines per os, am 7. April 1907 5 ccm virulentes Blut subkutan, am 11. Mai 1907 20 ccm virulentes Organfiltrat subkutan. Das 15 Tage nach der letzten Injektion entnommene Serum schützte in der Dosis von 10 ccm (subkutan) gegen die krankmachende Wirkung von 0,5, in anderen Fällen von 1 ccm virulenten Pestblutes.

II. Aktive Immunisierung mit abgeschwächten Krankheitserregern.

Die Methoden der Impfung mit abgeschwächten Krankheitserregern folgen der alten Erfahrungstatsache, daß auch leichte Erkrankungsformen gewisser Infektionen einen Schutz hinterlassen, der hinter der nach schwersten Erkrankungen erworbenen Immunität nicht zurückzustehen braucht.

Durch JENNER & PASTEUR ist gerade mit diesem Prinzip der Impfung mittels abgeschwächter Krankheitserreger ein fester und bleibender Grundstein der Immunitätslehre gelegt worden.

Seitdem ist das Prinzip nicht nur für die Schutzimpfung, sondern auch für die Antikörpergewinnung außerordentlich häufig zur Anwendung gekommen: es mußte ja schon deshalb mehr befriedigen, als die Impfschäden, die die Verwendung von vollvirulentem Antigen zur Folge hatte, hierbei eingeschränkt wurden; aber freilich, auch nur eingeschränkt, nicht beseitigt, denn alle Mängel der Einverleibung

virulenten Materials müssen eben notwendig auch der Einführung des abgeschwächten, aber doch lebenden Antigens, wenn auch in vermindertem Maße, anhaften. Das gilt nicht für die Schutzpockenimpfung, an deren Erfolge noch immer keines der nachgebildeten Verfahren heranzureichen vermag. Diese haben in der Praxis vielmehr deshalb mit Mißerfolgen zu rechnen, weil bei einzelnen Antigenarten die Abschwächung nicht immer in zuverlässig gleicher Weise erfolgt, oder weil vielleicht auch bei der Aufbewahrung ein Rückschlag zu gesteigerter Virulenz erfolgen kann. So erklärt man die Impfverluste (bei der Pasteurschen Milzbrandschutzimpfung 1 Prom.). Es können natürlich auch unter den Impflingen besonders disponierte Individuen sich finden, die trotz der Abschwächung des Antigens erkranken. Ferner kommt zu dem Impfschaden noch die Propagation der Erreger, die nun auch im virulenteren Zustand ausgeschieden werden können, hinzu. Erfolgt andererseits bei der Antigenherstellung oder Aufbewahrung eine zu starke Abschwächung, so ist der Impfschutz nicht ausreichend, die geimpften Organismen sind dann einer nachfolgenden Impfung mit stärkerem Virus oder dem Ansturm der natürlichen Infektion nicht gewachsen.

Es ist aber doch hervorzuheben, daß die Methoden der aktiven Immunisierung mit abgeschwächten, wie überhaupt mit lebenden Krankheitserregern, so bedenklich sie nach den bisherigen Erfahrungen in vielen Fällen erscheinen müssen, nun nicht in Bausch und Bogen zu verwerfen sind, wie das manche Autoren tun möchten. Im allgemeinen ist noch viel zu wenig Rücksicht genommen worden auf die Eigentümlichkeiten der Kulturrassen. Man hat mit großem Fleiß alle nur möglichen Modi der künstlichen Kulturabschwächung versucht, bis zu einem gewissen Grade sind hiermit wohl auch Antigene zu erhalten, die wenigstens zur Teilimmunisierung geeignet sein können. Es ist aber doch hervorzuheben, daß, wenn man die Infektionsfähigkeit durch künstliche Maßnahmen unterdrücken will, hierdurch auch in irgendwelchem Sinne das Antigen Einbuße erleidet. Ob es nicht mitunter lohnender sein dürfte, alle Mühe, die die künstliche Abschwächung erfordert, darauf zu verwenden, Kulturen aufzusuchen, die unter natürlichen Bedingungen eine Abschwächung erfahren haben? Daß die Natur dauerhafter arbeitet, als unsere künstlichen Eingriffe, erfahren wir ja tagtäglich. Daß dies Suchen nach geeigneten Kulturrassen noch Erfolg verspricht, dafür sprechen mancherlei Beobachtungen, so auch diejenige Löfflers, daß eine bestimmte Rindertuberkelbacillenkultur bei subkutaner Injektion von 2 mg die für Typus bovinus empfänglichen Kaninchen nicht mehr krank machte (vgl. hierzu das Kapitel: Qualität des Antigens, S. 150).

a) Abschwächung durch hohe Temperaturen.

Der Schöpfer dieser Methode ist Pasteur. Zwar hat Toussaint schon im Jahre 1880 defibriniertes und erhitztes Milzbrandblut auf Schafe zum Zweck der Immunisierung verimpft — er erwärmte das Blut 10 Minuten auf 55° und injizierte davon 3—6 ccm —, aber er tat dies nicht in der Absicht, durch das Erwärmen die Virulenz abzuschwächen und die Erreger des Milzbrandes dabei noch am Leben zu erhalten, sondern er wollte durch diese Temperatur das Milzbrandblut von Bakterien befreien. Erst Pasteur hat dann die Frage planmäßig in Angriff genommen, wie das Milzbrandvirus in geeigneter

Weise seiner starken Pathogenität entkleidet werden könne, ohne daß seine Lebensfähigkeit Einbuße erleidet. Wir müssen bei dieser Methode der Abschwächung durch hohe Temperaturen unterscheiden, ob durch einen einmaligen Eingriff die Herabminderung der Pathogenität herbeigeführt werden soll, oder ob man die Eigentümlichkeit des ganzen Stammes durch außergewöhnliche Temperaturen beeinflussen will. Das letztere tat Pasteur: er züchtete die Milzbrandbacillen bei einer supraoptimalen konstanten Temperatur und konnte nun systematisch die Kurve des Virulenzverlustes verfolgen. Dieser vollzieht sich hierbei allmählich, und gerade deshalb bietet diese Methode der schonenden Beeinflussung durch die erhöhte Temperatur Vorteile.

Welche Temperaturgrade man wählen muß, um die Virulenz zu schwächen, läßt sich nicht einheitlich beantworten, nicht nur die einzelnen Arten, sondern auch die einzelnen Stämme verhalten sich verschieden. Zum mindesten muß man die optimalen und maximalen Züchtungstemperaturen kennen; inwieweit diese der Schwankung unterliegen, s. Gotschlich, Bd. I. Will man die Abschwächung nicht durch Züchten bei außergewöhnlichen Temperaturen, sondern durch einmaliges Erwärmen erreichen, so ist zu berücksichtigen, daß die nötige Erwärmungsdauer sich zu richten hat nach dem jeweiligen Suspensionsmedium: es ist etwas anderes, ob ich Bakterien in Wasser, Kochsalz, Bouillon oder in sonst einer Nährlösung suspendiere.

Für die Analyse des Immunisierungsvorganges ist nicht außer acht zu lassen, daß wir bei dieser Art der Antigengewinnung keineswegs nur lebende Bakterienzellen in den Organismus einführen. Es ist anzunehmen — das bedarf bei den einzelnen Arten noch der systematischen Untersuchung —, daß in den bei supraoptimalen Temperaturen gehaltenen Kulturen es leichter zu einer Spontanauflösung oder Extraktion vieler ohnehin nicht normal entwickelter Zellen kommt. Je näher wir ferner bei der Erwärmung der Abtötungstemperatur kommen, um so größer wird die Zahl der schon vor diesem höchsten Temperaturpunkt durch die Wärme vernichteten Bakterien sein, denn die Abtötungstemperatur ist kein Punkt, sondern eine Strecke, labilere Formen gehen eher zugrunde, damit ist aber auch ein Uebertritt plasmatischer Stoffe in die Suspensionsflüssigkeit gegeben, was gewiß für den Verlauf der Immunisierung, namentlich der Grundimmunisierung, nicht gleichgültig ist. Es ist noch fraglich, ob die Abschwächung der Virulenz, die man nach Durchgang durch verschiedene Temperaturen beobachtet, nicht oder wenigstens nicht auch durch die damit notwendige Angewöhnung an eine andere Wachstumstemperatur bedingt ist, so haben Kaninchen, Kälber, Schweine eine um etwa 1,5° C höhere Körperwärme als der Mensch.

Beispiele:

1. Pasteurs Schutzimpfung gegen Milzbrand.

Impfstoff: Pasteur, Chamberland & Roux zeigten, wie durch Züchtung von Milzbrandbacillen bei Temperaturen zwischen 42 und 43° deren Virulenz soweit vermindert wird, daß sie nun zu Immunisierungszwecken verwendet werden können. Zunächst nahm man die Züchtung in neutraler Hühnerbouillon vor, man erreicht aber das gleiche auf Rinder- oder Pferdebouillon, auch auf Agar. Proportional der Zeitdauer der Züchtung bei dieser Temperatur sinkt das patho-

gene Vermögen. Das geht namentlich aus den Untersuchungen von Koch, Gaffky, Löffler hervor.

Pasteur benutzte 2 Impfstoffe: premier Vaccin, von schwächster Virulenz, die Kulturen sind lange Zeit, 24 Tage, bei 42,5° gehalten, und deuxième Vaccin von stärkerer Virulenz, die Kultur ist nur 12 Tage bei 42,5° gehalten. Vaccin I tötet nur noch weiße Mäuse, nicht mehr mit Bestimmtheit Meerschweinchen, Vaccin II tötet Mäuse und Meerschweinchen, nicht aber sicher Kaninchen.

Für die Präparierung des Impfstoffes ist zu berücksichtigen, daß nicht jeder Milzbrandstamm für die Vaccinherstellung verwendet werden kann. Am besten eignet sich die Temperatur von 42,5°, da bei 43° manche Stämme gar nicht, andere nur sehr dürftig wachsen.

Von Vorteil ist, daß bei diesem Abschwächungsmodus das pathogene Vermögen des Stammes sich fast konstant erhält, auch bei Fortimpfung auf den günstigsten Nährböden unter optimalen sonstigen Bedingungen. Die Konstanz ist um so ausgesprochener, je länger die erhöhte Züchtungstemperatur auf die Kulturen eingewirkt hatte. Natürlich sind trotzdem Nachprüfungen mit den jungen (16—18 Stunden alten) bei 37° gezüchteten Kulturen angebracht. Nach Sobernheim[1] nimmt man zur Virulenzprüfung am besten Kaninchen von 1200 bis 1500 g, Meerschweinchen von 3—400 g, sowie weiße Mäuse, und zwar je 3 Tiere mit fallenden Kulturmengen, und zwar $^1/_{10}$, $^1/_{100}$ und $^1/_{1000}$ Oese, subkutan (Bauchhaut). Herstellung der Suspension siehe Sobernheim[1]. Bei dieser Prüfung ist mit der verschiedenen individuellen Empfänglichkeit der Versuchstiere zu rechnen.

Die abgeschwächten Vaccins sind am besten bei gleichmäßiger Zimmertemperatur zu halten und auf Nährböden gleicher Beschaffenheit fortzuzüchten. Sobernheim empfiehlt auch die Aufbewahrung in zugeschmolzenen Glasröhrchen oder die Konservierung in Sporenform.

Die Laboratorien, welche die Pasteurschen Impfstoffe liefern, halten sich die abgeschwächten Stammkulturen vorrätig, um dann bei Bestellungen durch frische Ueberimpfung die abzugebenden Vaccins von Fall zu Fall herzustellen. Es wird, wie ich Sobernheim entnehme, von den Stammkulturen Bouillon geimpft, die 2 Tage bei ca. 38° verbleibt. Damit der zweite Impfstoff in gut wirksamem Zustande zur Verwendung kommt, wird er von den Laboratorien erst 12 Tage später als der erste abgegeben.

Die Impfung wird so ausgeführt, daß die Impflinge zunächst Vaccin I erhalten, und zwar Rinder 0,25 ccm, Schafe 0,12. Nach einer Pause von 12 Tagen wird die gleiche Menge Vaccin II verabreicht. Die Impfungen geschehen subkutan. Etwa 14 Tage nach der zweiten Impfung vertragen die Tiere virulenten Milzbrand; und zwar sowohl wenn das Virus subkutan als auch per os in Sporenform verabreicht wird.

Der Schwerpunkt der Pasteurschen Methode liegt bei Kultur II, auf deren Virulenzstand das größte Gewicht zu legen ist, hiervon hängt der Erfolg ab; bei Verminderung der Virulenz ist die Immunität eine ungenügende, bei Steigerung treten Impfschäden auf, in den schlimmsten Fällen tödliche Infektion.

Mit der Pasteurschen Methode gelingt es nicht, die kleineren Versuchstiere (Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten, Mäuse) zu immunisieren. Ueber die Erfolge bei Rindern, Schafen, Pferden usf. vgl. Sobernheim. Eine allerdings nicht in jedem Falle zum Ziele führende Immunisierung von Kaninchen erreichten Roux-Chamberland durch intravenöse Einspritzung großer Mengen von Vaccin I (40 ccm), Wiederholung der gleichen Impfung nach 2 bis 3 Tagen, dann subkutan 0,25 Vaccin II. Sobernheim empfiehlt in Zwischenräumen von 8—10 Tagen je 2—3 subkutane Injektionen von Vaccin I und II in steigenden Mengen. Ueber die äußerst schwierige Immunisierung von Meerschweinchen siehe Sobernheim[1].

2. Impfungen gegen Rauschbrand.

Methode von Arloing, Cornevin & Thomas, „Lyoner Verfahren". Das Prinzip dieser Methode folgt durchaus dem der Pasteurschen Milzbrandimpfung: die Erhitzung bezweckt die in dem Rauschbrand-

material befindlichen Sporen abzuschwächen, die höhere Temperatur schwächt in stärkerem Maße ab als die niedere.

Impfstoff. Ausgepreßter Saft von rauschbrandigem Fleisch wird bei 32—40° auf flachen Tellern getrocknet, abgeschabt, mit Wasser angefeuchtet und in 2 Hälften geteilt; die eine Hälfte (Vaccin I) wird im Trockenofen oder Oelbad 6 Stunden auf 100—104°, die andere (Vaccin II) auf 85—90° 6 bis 7 Stunden lang erhitzt. Danach werden die durch diese langdauernde Erhitzung trocken gewordenen Vaccins in einer Mühle (Kaffeemühle) fein zerkleinert bis zur Pulverform und kommen in Papierkapseln zum Versand.

Am Gebrauchsort werden die Pulver in sterilem Mörser mit sterilem Wasser angerührt, durch ein Stückchen Leinwand filtriert. Das Filtrat von Vaccin I wird subkutan am Schweif in der Dosis von 1—2 cg (Trockenpulver) injiziert, 10—14 Tage später an einer tieferen Stelle Vaccin II.

Eine vielfach angewendete Abänderung des Lyoner Verfahrens besteht darin, die Schweifimpfung nur einmal vorzunehmen, und zwar mit einem dem Vaccin II ähnlichen Präparat. Man verwendet als Ausgangsmaterial meist nicht Muskelsaft, sondern nach dem Vorschlag von Kitt und dem Vorgange von Arloing Rauschbrandfleisch. Ein solches Antigen ist der Berner Impfstoff, nach dessen Injektion im Jahre 1905 0,8 Prom. (Kanton Bern), im Jahre 1907 nur 0,15 Prom. Impftodesfälle auftraten.

Kitt zermahlt das getrocknete Rauschbrandfleisch zu Pulver und setzt dies in flachen Glasschalen dem strömenden Wasserdampf bei 97° 5—6 Stunden lang aus. (Tödliche Dosis für Schafe 2—6 dcg, kleinere Dosen immunisieren.) Aehnlich ist der Impfstoff Nörgaards (Rauschbrandfleischpulver, 6 Stunden bei 93—94° gehalten, einmalige Impfung an der Schulter).

Ueber die Herstellung des vom Jenner-Pasteur-Institut in Budapest abgegebenen Fleischkulturimpfstoffes, der in Bezug auf den Abschwächungsmodus sich an die Gewinnung der Lyoner Vaccins anlehnt, s. R. Grassberger & Schattenfroh[2].

Die genannten Rauschbrandantigene werden unter Benutzung des Fleisches von der natürlichen oder künstlichen Infektion erliegenden Tieren gewonnen.

Hierbei liegt die Gefahr nahe, daß das Vaccin Mischinfektionserreger beigemengt enthält, die zu Impfschäden führen können. Auch ist der Virusgehalt der erkrankten Muskulatur Schwankungen unterworfen. Man ist deshalb darauf ausgegangen, an Stelle des Fleisches Rauschbrand-Reinkulturen als Antigen zu verwenden und ihre Virulenz durch Erwärmen abzuschwächen.

Leclainche & Vallée züchten in Martinscher Bouillon (in der die Virulenz kräftig und konstant bleiben soll) und erwärmen 2 Stunden auf 70°, diese Kultur tötet nur noch große Meerschweinchen über 300 g, jüngere nicht. Erwärmen auf 75—80° die gleiche Zeitdauer schwächt die Kultur soweit ab, daß sie auch große Meerschweinchen bei Verwendung der Dosis 1 ccm nicht mehr tötet. Diese Meerschweinchen sind dann immun gegen tödliche Dosen der unabgeschwächten Kultur. Das Verfahren ist für Rinder geeignet (junge Rinder erhalten 2 ccm Vaccin), die dann virulente Kulturen vertragen und damit eine weitgehende Immunität selbst gegen intramuskuläre Applikation frischen infektiösen Materials erlangen. Empfohlen wird zweimalige Impfung. Der Impfstoff wird in zugeschmolzenen Glasröhrchen fertig zum Gebrauch abgegeben und ist damit bequemer zu handhaben als die Impfpulver, deren Zubereitung für die Impfung zeitraubend ist.

Kitt nimmt 5—8 Tage alte auf Martinscher Bouillon gewachsene Kulturen, die fast nur Sporen enthalten, und hält diese in Glasröhrchen eingeschmolzen 2 Stunden im Wasserbad bei 70°. Diese Kultur bleibt lange gebrauchsfähig. er empfiehlt einmalige Impfung subkutan oder intramuskulär (2—3 ccm).

Foth erwärmt Alkoholpräzipitate aus Rauschbrandkulturen (Leberpeptonbouillon) auf 93° und vermischt sie mit dem Alkoholpräzipitat aus Filtraten (Fließpapierbrei) von Bouillonkulturen, subkutane Immunisierung von Meerschweinchen, Schafen, Rindern.

Nach Leclainche-Vallée ist übrigens von dem Rauschbrand-Blut nicht zu befürchten, daß es akzidentelle Keime enthält, vorausgesetzt, daß es frischen Kadavern aseptisch entnommen wird. Es enthält nur Rauschbrandbacillen, die bei 37° in 2 Tagen sporulieren. Sie trocknen dies sporenhaltige Blut in Glasschalen 3—4 Stunden bei 37°, erhitzen einen Teil 7 Stunden auf 102° (Vaccin I), den anderen ebenso lange auf 92° (Vaccin II). Von Vaccin I töten 10 cg Meerschweinchen von 100 g, von Vaccin II 5 cg.

3. Pest.

Pestkulturen konnten von Kolle & Otto durch Züchten bei supraoptimalen Temperaturen so weit abgeschwächt werden, daß sie zu Vaccins geeignet waren (Ratten, Meerschweinchen, Mäuse). Die Höhe der Züchtungstemperatur und die Zeitdauer, die man anwenden muß, sind bei den einzelnen Stämmen verschieden. Geeignet waren die Temperaturen von 40—43° (vgl. hierzu S. 18).

Die Temperatur von 50° fand die deutsche Pestkommission nicht für geeignet, Pestbacillen für die aktive Immunisierung abzuschwächen: Virulenz und Lebensfähigkeit erloschen gleichzeitig (Gaffky-Pfeiffer-Sticker-Dieudonné, Bericht etc.).

4. Methode der Tollwutschutzimpfung nach Babes-Puscariu.

Prinzip. Virus fixe erfährt durch Erwärmen auf 56—58° eine Virulenzabschwächung, deren Grad von der Dauer der Erwärmung abhängt, das gleiche erzielt man durch 10 Minuten langes Erwärmen auf verschiedene Temperaturen.

Impfstoff. a) Virus fixe wird emulsioniert und die Emulsion wird in Portionen geteilt, die 2—40 Minuten auf 58° erwärmt werden. Die Emulsion 40 Minuten tötet Kaninchen nicht mehr, die Emulsion 2 Minuten in 9 Tagen, dazwischen liegen die genau abfallenden Virulenzgrade.

b) Emulsionen von Virus fixe werden 10 Minuten lang auf 35—60° erwärmt, die Emulsion 60° läßt die Tiere am Leben, die Emulsion 50° tötet die Tiere in 11—12 Tagen, die Emulsion 35° in 9 Tagen.

Es sei darauf hingewiesen, daß einige der genannten Schutzimpfungsmethoden (Milzbrand, Rauschbrand) an einem methodischen Fehler kranken: sie berücksichtigen das Quantitative nicht genügend. Zwar werden die Vaccinquanten abgemessen oder abgewogen, aber die Frage, wieviel wirksames Virus ist nun in diesem Vaccin, bleibt offen. Man kennt nicht nur nicht den Gehalt des Ausgangsmaterials an lebenden vegetativen und Dauerformen, sondern man bleibt auch im Ungewissen, wieviel von dem Impfmaterial das Erwärmen überdauert. Es dürften nicht nur die Differenzen des Virusgehaltes des Ausgangsmaterials ziemlich weitgehende sein, sondern auch der Effekt der Erwärmung wird bei den einzelnen Vaccinegewinnungen sich in verschiedenem Grade geltend machen müssen. Die frühere Anschauung, daß die einzelnen Insassen einer Kultur oder eines Infektionsherdes biologisch gleichwertig sind, besteht nicht zu Recht, so sind auch gegenüber der erhöhten Temperatur die einzelnen vegetativen Formen und die Sporen verschieden empfindlich: es muß somit das Erwärmen

eine Reduktion der Keimzahl bedingen, die verschieden ausfällt. Es folgt daraus, daß die Kenntnis der eigentlich wirksamen Impfdosis eine völlig unbefriedigende ist. Besteht nun die Abschwächung z. B. bei dem Rauschbrandvaccin in einer verminderten Aussaatmenge, die wir dem Impfling durch das Vaccin einverleiben? Oder ist die durch das Erwärmen gesetzte qualitative Schädigung des Keims das Wesentliche? Hier fehlen noch wissenschaftliche Versuche, die der Methode einen Halt geben könnten.

Jedenfalls ist es nötig, gerade bei dieser Gruppe von Methoden mehr und mehr den Schematismus abzustreifen, wenn sie nicht noch weiter in Mißkredit kommen sollen: bei Rauschbrand ist es sicher, daß nur dann ein genügender Schutzwert erzielt wird, wenn es wirklich bei dem Impfling zu einer Entwicklung der Rauschbrandbacillen gekommen ist. Dies Virus einmal so intakt zu lassen, daß es gerade noch zu infizieren vermag, gleichzeitig aber mit Sicherheit auch so in Schranken zu halten, daß die Infektion nicht schwer oder tödlich wirkt, ist durch die bisherigen Verfahren, die sich der einmaligen Erwärmung bedienen, nicht erreicht. Sollte nicht hier auch die biologisch richtigere, weil allmählich erfolgende Abschwächung durch Züchtung bei submaximalen Temperaturen günstig wirken?

Ein weiterer technischer Mangel der Antigenbereitung, die von dem Rauschbrandfleisch und -blut ausgeht, ist die ungleichmäßige Beschaffenheit des Impfpulvers und der daraus hergestellten Emulsion· entsprechend der Bereitungsweise ist diese nicht homogen, wenn aber ein virulente Krankheitserreger enthaltendes Impfmaterial zum Teil aus nicht genügend aufgeschlossenen Brocken besteht, so muß in diesem Falle der Impfeffekt ein anderer sein als bei Verwendung einer mehr homogenen Emulsion.

b) Abschwächung durch Trocknen.

Auch dies Prinzip stammt von Pasteur, es ist zur systematischen Anwendung bei seiner Methode der Tollwutimpfung gekommen. Es gelang ihm, das im Rückenmark infizierter Kaninchen befindliche Tollwutvirus durch fortgesetzte Trocknung progressiv abzuschwächen, so daß es nun zur Erzielung und Steigerung aktiver Immunität gegen Lyssa dienen kann.

Im übrigen hat das Prinzip bei der aktiven Immunisierung gegenüber anderen Infektionskrankheiten sehr wenig Verbreitung gefunden. Tatsache ist, daß, wie alle vitalen Funktionen, so auch die Pathogenität durch Trocknen Einbuße erleidet und schließlich verloren geht.

Es ist aber gar nicht so leicht, dies Mittel methodisch zur Virulenzabschwächung zu benutzen, die Schwierigkeiten sind erheblich größer als bei der Abschwächung durch Erwärmung. Es ist erwiesen, wie verschieden sich züchtbare Krankheitserreger unter verschiedenen Trocknungsbedingungen verhalten. Trotzdem müßte diese Abschwächungsmethode noch weitere Anwendung ermöglichen, da sich Gesetzmäßigkeiten in der Absterbekurve sicher haben feststellen lassen. Die Tatsache, daß in manchen bisherigen Versuchen, diese Trocknungsmethode zur Abschwächung zu benutzen, sich Unsicherheiten ergaben, ist sehr begreiflich, da es sich hierbei nicht um ein planmäßiges Vorgehen gehandelt hat. Wie man es aber doch in der Hand hat, eine

gewünschte Virulenzskala durch Trocknen bei gleichmäßiger Versuchsgestaltung aufzustellen, zeigt eben das Beispiel des Tollwutvirus.

Es liegen freilich bei anderen Infektionserregern die Verhältnisse meist ganz anders, z. B. wenn man die vom festen Nährboden abgehobenen Keime trocknen läßt; hier würden die Punkte des Virulenzverlustes und des Absterbens zu nahe aneinander liegen. Man kann diese zwischen beiden liegende Strecke aber sicher verbreitern durch vorsichtiges Trocknen eventuell unter Variierung der Temperatur und vor allem durch Beigabe verschiedener Einhüllungsmedien: wer hätte früher an die Möglichkeit gedacht, die sonst so empfindlichen Pneumokokken $^1/_2$ oder $^3/_4$ Jahre lang im trocknenen Zustand virulent zu erhalten, wie das heute mit Leichtigkeit durch Einlegen von Organstücken der Pneumokokkentiere in den Exsikkator gelingt.

Es ist auch daran zu denken, ob man nicht durch systematische Fortzüchtungen virulenter Bakterien auf Nährböden, die verminderten Wassergehalt führen, allmählich die Virulenz auf eine konstante Stufe bringen kann, ein Verfahren, das theoretisch vor dem einmaligen Eingriff des Trocknens mancherlei voraus hätte.

Bei den heute üblichen Methoden des Trocknens ist auch noch in Betracht zu ziehen, ob es sich bei der Abschwächung in der Tat lediglich um eine qualitative Aenderung des Virus infolge des Wasserverlustes handelt, oder ob nicht die durch das Trocknen herbeigeführte Verminderung der Zahl lebender Infektionserreger das Wesentliche ist. Das letztere ist für die PASTEURsche Lyssamarktrocknung vor allem von HÖGYES festgestellt worden, nachdem schon PASTEUR (wie HELLER zitiert) an einem Beispiel gezeigt hatte, daß es sich bei der Abnahme der Infektiosität des Marks nicht um eine Virulenzabnahme der Erreger handelt.

Ein Grund für den verschiedenen Ausfall der Abschwächung durch Trocknen liegt auch darin, daß man zumeist die Art des Mediums nicht berücksichtigt, innerhalb dessen das abzuschwächende Virus sich befindet, denn es kommt, wie für die Einbuße an vitalen Eigenschaften so auch für die Destruktion der Antigensubstanzen nicht nur auf die Wasserentziehung an, sondern es kann das eine oder andere Mal durch die beim Trocknen eintretende stärkere Konzentration von Salzen oder anderen gelösten Substanzen eine ganz verschiedene Alteration des Antigens auch bei gleichem Trocknungsgrad herbeigeführt werden.

Beispiele:

1. PASTEURS Tollwutimpfung.

Da diese ausführlich in Bd. VI wiedergegeben ist, so soll sie hier nur kursorisch behandelt werden. Prinzip: Straßenwutvirus (Gehirn von der Tollwut erlegenen Hunden) wird bei Passage von Kaninchen zu Kaninchen zu einer höchsten, nicht mehr zu steigernden konstanten Virulenz gebracht (Virus fixe), Rückenmark solcher mit Virus fixe geimpften und tollwütigen Tiere wird in seiner Virulenz in trockener Luft bei gleichbleibender Temperatur in verschiedenem Grade bei verschieden langer Aufbewahrung abgeschwächt. Durch systematische Behandlung von Menschen mit den verschieden lange getrockneten Marken in einem bestimmten Turnus tritt eine Immunität auch gegen Straßenvirus ein.

Impfstoff. Entnahme des Rückenmarks von den die Wutsymptome zeigenden oder in Agone befindlichen Kaninchen sowie viele Einzelheiten sind eingehend geschildert von HEIM, ferner BABES im Handbuch von PENZOLDT und STINTZING sowie bei R. KRAUS[1]. Siehe auch dieses Handbuch, Bd. VI.

Die Entnahme darf nach MARX nicht bei spontan verendeten, sondern muß bei noch lebenden Tieren, deren Tod in 1—2 Tagen zu erwarten ist, geschehen, um akzidentelle Keime zu vermeiden. Das an der Medulla und unterhalb der Lumbalanschwellung abgetrennte Mark wird in situ halbiert, danach wird eine kleine Probe zur Prüfung auf bakterielle Sterilität entnommen, die beiden Hälften werden mittels Seidenschlinge oder Platindrahtes in ein weites steriles Gefäß eingehängt, das am Boden mehrere Stangen Aetzkali enthält.

Die Gefäße werden bei 20° (nach R. KRAUS bei 22—25°) im Dunkeln aufbewahrt (Abbildungen s. bei HEIM, ferner R. KRAUS).

Ueber die Herstellung der Markserien, Turnus der Impfung etc., s. Bd. VI.

Das Virus ist nach 12—14-tägigem Trocknen für Kaninchen unschädlich (bei dünnem Mark nach 6—8 Tagen), das 1—4 Tage lang getrocknete Virus ist noch virulent, d. h. es erregt Wut in 7 Tagen (bei dünnem Mark ist schon nach 2 Tagen Verzögerung des Wutausbruches beim Kaninchen zu beobachten).

Nach PASTEUR wird die Behandlung des Menschen in der Regel mit dem 8 Tage lang getrockneten Mark begonnen.

Für die Verimpfung auf den Menschen wird 1 cm des betreffenden Markes in einem Reibglas mit 5 ccm Bouillon oder physiol. Kochsalzlösung oder mit der BABESschen Lösung (5 g Natr. sulf., 6 g Natr. chlorat., 1000 ccm Wasser) verrieben, von der Emulsion werden 1—3 ccm entsprechend dem Alter des Markes und dem des Patienten subkutan in der Bauchgegend eingespritzt.

Das Schema der Behandlung richtet sich nach der Schwere des Falles, Lokalisation des Bisses, Stadium der Erkrankung, Alter der Patienten usf.

Die Virulenz des Impfstoffes richtet sich, wie erwähnt, auch nach der Größe der Kaninchen, das Mark kleinerer Tiere trocknet schneller, es ist ein gleichmäßig schweres Tiermaterial zu wählen. BUJWID trocknet bei 8—10°, dieses Virus ist virulenter als gleich lange Zeit bei 20° getrocknetes.

Nach den neueren Erfahrungen, namentlich von BABES[4], BUJWID u. a. ist eine intensivere Behandlung als die von PASTEUR empfohlene, besonders bei schweren Fällen angezeigt, ohne daß eine Schädigung der Patienten durch den Impfstoff zu befürchten wäre: bereits am 1. oder 2. Tag wird virulentes Mark von Virus fixe vertragen. Man neigt jetzt in einzelnen Instituten mehr dazu, das Virus weniger lang dem Trocknen auszusetzen und die Steigerung zu dem virulenten Mark schneller vorzunehmen.

2. Aktive Immunisierung von Affen gegen Poliomyelitis-Virus.

Diese Methode lehnt sich an die PASTEURsche Tollwutschutzimpfung an (LANDSTEINER & LEVADITI). Das Mark infizierter Affen wird 3—9 Tage lang über Kali causticum, ganz wie das Virus fixe PASTEURS, getrocknet. Im ganzen verträgt das Mark diese Art der Austrocknung 15 Tage lang. Die zu immunisierenden Affen erhalten an acht aufeinanderfolgenden Tagen subkutan je 2 ccm des verschieden lange getrockneten Marks, angefangen mit dem 9 Tage lang getrockneten. Immunität konnte 10—19 Tage nach der letzten Impfung konstatiert werden (intracerebrale Probeimpfung). Im Gegensatz zu Lyssa verhütet diese Immunisierung die Erkrankung nicht, falls während der Inkubationsperiode injiziert wird.

Ueber LÖFFLERS Trockenantigene siehe S. 40, 54.

Mit Hilfe anderer physikalischer Mittel (Licht, Röntgenstrahlen, Radium, Elektrizität, hoher Druck usf.) gelingt es zwar auch, die Virulenz von Infektionserregern herabzusetzen, indessen sind methodische Versuche, hierdurch für die aktive Immunisierung brauchbare, noch lebendes Virus enthaltende Impfstoffe zu erhalten, noch nicht bekannt geworden.

Eine Kombination von Züchtung bei etwas erhöhter Temperatur und Abschwächung durch Druck von 8 Atmosphären ist von CHAUVEAU zur Herstellung eines Milzbrandvaccins benutzt worden.

Hier darf auch COURMONTS homogene Tuberkelbacillenkultur, die durch Schütteln eine weitgehende Veränderung ihrer biologischen Eigenschaften erfahren hat, angereiht werden. Ihre kutane Applikation kann zu einem spontan

sich rückbildenden Prozeß führen. Trotzdem ist damit eine Widerstandsfähigkeit gegen kutane Reinfektion mit humanen Tuberkelbacillen nicht eingetreten (Beobachtungen von KRAUS & VOLK[2] an Makaken).

c) Abschwächung durch chemische Mittel.

PASTEUR hat zur Gewinnung von Milzbrandvaccin schon den Zusatz schwacher Desinficientien zu Kulturen empfohlen, CHAMBERLAND & ROUX benutzten zur Abschwächung 1 Teil Karbolsäure auf 600 bis 800 Teile Bouillon oder doppelt chromsaures Kali (1:2000—5000), nach 1 Woche erwiesen sich dann die Milzbrandbacillen als avirulent gegenüber Schafen. Diese Methoden haben aber praktische Bedeutung nicht gewonnen. Seitdem sind Chemikalien noch mehrfach zur Abschwächung benutzt worden, in manchen Fällen haben aber wohl die beigegebenen chemischen Stoffe eine Sterilisierung herbeigeführt.

1. Alkohol.

Beispiele: a. HETSCH konnte Pestbacillen durch Züchtung auf Alkoholbouillon soweit abschwächen, daß sie nun zu Immunisierungszwecken geeignet waren (s. KOLLE-HETSCH-OTTO).

Die Züchtung der Pestbacillen geschah in 50 ccm Bouillonkölbchen bei 30°. Von den Ausgangskulturen tötete $^1/_{100}$ Oese subkutan Meerschweinchen, Ratten, Mäuse in wenigen Tagen. Für die Abschwächung wird 0,5—5 Proz. Alcohol absol. zur Bouillon zugesetzt, und zwar verbleiben die Kulturen ca. 3 Wochen im Brutschrank, es wird zunächst die Züchtung in der Bouillon mit niedrigem Alkoholzusatz vorgenommen, danach Entnahme einer kleinen Portion zur Isolierung mittels Agarplatte, nach 48 Stunden Abimpfung von typischen Kolonien auf Agar, hiervon Impfung eines weiteren Bouillonkölbchens mit höherem Alkoholgehalt, 3 Wochen lange Züchtung bei 30°. Eventuell Wiederholung ein- oder zweimal unter Steigerung des Alkoholzusatzes. Es sind durchaus nicht alle Stämme durch dies Verfahren in gleicher Weise abzuschwächen, es gelang HETSCH aber doch bei einigen Stämmen die Virulenz soweit herabzudrücken, daß Meerschweinchen $^1/_2$ Agarkultur vertrugen. Die Abschwächung erstreckte sich mitunter nicht gleichmäßig auf alle Versuchstierarten.

b. Durch die Kombination der Züchtung von Pestbacillen bei 41 bis 43° und Zusatz von 0,5—5 Proz. Alkohol zu der Bouillon konnte KOLLE aus virulenten Kulturen in 2—3 Monaten fast avirulente herstellen, die selbst in der Menge von einer ganzen Agarkultur Meerschweinchen und Affen nicht infizierten, wohl aber einen Schutz gegen frischvirulente Pestbakterien herbeiführten (vgl. KOLLE & OTTO, KOLLE-HETSCH-OTTO).

Die Ungefährlichkeit eines solchen Pestvaccins für Menschen ist von KOLLE & STRONG dargetan: Anfangsdosis $^1/_{100}$ Oese, Steigerung allmählich bis zur ganzen Agarkultur. Injektion subkutan (Gegend des Deltamuskels).

An Affen wurde nach subkutaner Impfung festgestellt, daß die so eingeführten lebenden Keime dieses Vaccins nur 6—8 Stunden noch lebensfähig in dem geimpften Organismus anzutreffen waren, nach 24 Stunden blieben die mit den Entnahmeproben geimpften Nährböden steril.

KOLLE & STRONG betonen, daß nicht jeder abgeschwächte Stamm für solche Impfungen am Menschen sich eigne, sie halten aber Stämme, welche Meerschweinchen in der Dosis von zwei Agarkulturen nicht mehr töten, für hinreichend abgeschwächt zur Verwendung beim Menschen.

2. Glyzerin.

Ein oft zur Abschwächung benutztes Mittel ist das Glyzerin. Es verhält sich aber nicht nur in verschiedenen Prozentsätzen, sondern auch den verschiedenen Krankheitserregern gegenüber sehr verschieden. Auf die Erreger der Pocken ist seine abschwächende Wirkung in bestimmter Konzentration eine sehr langsame, aber schließlich beeinflußt es auch dieses Virus ungünstig. Sehr rasch schwächt es z. B. das Virus der Rinderpest ab, die Impfung mit Glyzeringalle (Edingtons method), d. h. mit einer Mischung von Galle (4 Teile) der an Rinderpest verendeten Tiere mit Glyzerin (1 Teil) hat wegen dieser weitgehenden Virusabschwächung nur unsichere Resultate ergeben.

Zur Abschwächung der Infektiosität des Lyssavirus verwendeten Glyzerin Rodet, Galavielle und E. J. Martin. Der letztere stellte fest, daß bei Aufbewahrung von Gehirn an Lyssa verendeter Kaninchen in Glyzerin je nach Temperaturhöhe der Aufbewahrung und Zeit der Infektiosität verloren geht, ohne daß die Antigeneigenschaft verschwindet: bei 42° war dies nach einigen Stunden der Fall.

Abschwächung von Tuberkelbacillen. Nach Levy, Blumenthal & Marxer eignet sich eine 80-proz. Glyzerinlösung zur Abschwächung von Tuberkelbacillen, wenn man die Lösung unter Schütteln bei 37° einwirken läßt. Sehr wichtig dabei ist das Verhältnis von Bakterienmasse zum Volumen der Lösung. 5 mg Bacillen auf 4 ccm Lösung sind nach 1-tägigem Schütteln in 80-proz. Glyzerinlösung soweit abgeschwächt, daß die 2500—5000-fache Dosis erforderlich ist, um ein Meerschweinchen in derselben Zeit zu Fall zu bringen wie mit vollvirulenten Bacillen. Bei schwächerer Konzentration sind stärkere Abschwächungen zu erzielen. Vgl. hierzu S. 59.

Versuche zur Immunisierung von Meerschweinchen mit Hilfe von abgetöteten und darnach mit abgeschwächten Glyzerintuberkelbacillen s. E. Levy [1], die gleiche Methode wurde von Levy & Pfersdorff bei Rindern angewandt (Behandlung mit 3 Tage, 2 Tage und 1 Tag glyzerinisierten Tuberkelbacillen). Weitere Versuche am Meerschweinchen sind geschildert von Levy, Blumenthal & Marxer [3]. Nachprüfung und Bestätigung durch Hawthorn, der glyzerinisierte Tuberkelbacillen monatlich einmal auf Meerschweinchen verimpfte und nach 4-maliger Behandlung Schutz gegen virulente Tuberkelbacillen konstatierte (bei Verimpfung tuberkulösen Sputums entstand bei den immunisierten Tieren ein Abszeß, der nach Spaltung heilte.) Weitere Versuche (Meerschweinchen, Ziegen) s. A. Marxer [3], [4].

Ueber die Abschwächung von Rotzbacillen durch Glyzerin s. Levy, Blumenthal, Marxer [4]. Die Immunisierung mit solchem abgeschwächten Material ist eine sehr schwierige. Zur Erzeugung der Grundimmunität sind tote Bacillen zu nehmen, kleine Dosis soeben abgetöteter oder größere Dosis lange toter (3-täg.) Bacillen; die letzteren Tiere vertragen dann erhebliche Mengen des abgeschwächten Impfstoffes, während bei den ersteren Tieren nur eine kleine Dosis abgeschwächter Bacillen die Immunität erhöht. Je näher man mit der Abschwächung der Abtötungsgrenze kommt, um so besser eignet sich dieser Rotzimpfstoff zur Immunisierung.

3. Harnstoff und Galaktose.

Abschwächung durch Harnstoff s. LEVY, BLUMENTHAL, MARXER. Es gelang die Immunisierung von Kaninchen gegen virulente Rindertuberkelbacillen durch intravenöse Injektion von durch 25 Proz. Harnstoff bei 37 ^{0} (unter Schütteln) abgeschwächten bovinen Tuberkelbacillen, und zwar um so sicherer, je näher der Abtötungsgrenze die Abschwächung erfolgte (5—7$^1/_2$ Tage langes Schütteln).

Ueber Tuberkuloseimmunisierung von Meerschweinchen mit Harnstoff-Tuberkelbacillen s. LEVY, BLUMENTHAL & MARXER[3]. Dieselben Autoren[2, 3] berichten über Abschwächung durch Galaktose, daselbst auch Immunisierungsversuche an Meerschweinchen.

4. Karbolsäure.

Auch Karbolsäure kann zur Gewinnung eines abgeschwächten Virus benutzt werden z. B. bei Lyssa: nach den Versuchen von BABES[2] ist die Annahme FERMIS[2], daß eine viertelstündige Einwirkung von Karbolsäure 1:420 oder selbst von 1 Proz. Karbolsäure das Virus abtöte, nicht immer zutreffend.

Das Virus der Poliomyelitis acuta schwächte R. KRAUS[4] durch Zugabe von 0,5 Proz. Karbolsäure (Emulsion in Kochsalzlösung von Gehirn und Rückenmark von Makaken, die an experimenteller Poliomyelitis zugrunde gingen). Das Virus blieb so noch nach fünf Tagen infektiös (subkutan, einmalige Injektion schützt Makaken gegen spätere cerebrale Injektion). Doch erwies sich diese Art Abschwächung als recht unsicher (die Emulsionen waren konzentriert und meist nicht filtriert). Das mit 1—1$^1/_2$ Proz. Karbolsäure versetzte Virus war nach 1—3-tägiger Einwirkung noch virulent, nicht nach 4—5-tägiger. 10 ccm eines solchen mit 1 Proz. Karbolsäure versetzten und 5 Tage „bei niedriger Temperatur“ aufbewahrten Virus schützte bei subkutaner Injektion Makaken gegen nachträgliche subdurale Infektion.

5. Abschwächung des Lyssaantigens durch Magensaft nahmen WYRSIKOWSKY, TIZZONI & CENTANNI, durch künstlichen Magensaft BABES & TELASESCU vor (s. Lyssa).

6. Auf eine chemische Wirkung wird auch die Abschwächung bezogen, die virulente Kulturen beim Aufbewahren unter Luftzutritt erfahren: man bezieht das auf die Wirkung des Sauerstoffs, seitdem man weiß, daß die Kulturen in zugeschmolzenen Gefäßen sich virulenter erhalten (PASTEUR). Die Tatsache ist für eine große Reihe von Kulturen richtig, aber der Vorgang ist wohl komplizierter Art. Daß der Sauerstoff schon durch die Anregung der Aëroben zu weiterer Lebenstätigkeit oder auch durch Oxydationen zu Veränderungen in der Kultur führt, die auch die Virulenz beeinflussen, unterliegt keinem Zweifel, aber ebenso sicher ist, daß die beim Aufbewahren erfolgende Trocknung, die Verminderung der Keimzahl durch die ganze Summe schädigender Momente, wie sie in älteren Kulturen gegeben sind, zu dieser Abschwächung der Kultur beitragen.

Seitdem PASTEUR mit Erfolg alte Laboratoriumskulturen der Hühnercholera zur Immunisierung benutzt hat, ist in gleicher Weise oft verfahren worden. Für das Laboratorium kann die Methode zur Erzeugung der Grundimmunität Verwendung finden, aber sie ist unsicher, weil die Abschwächung zunächst gerade nur die in der alten Kultur befindlichen Individuen betrifft.

Der Abschwächung durch Luftzufuhr bedient sich HAFFKINE bei der Gewinnung seines Vaccins I zur Immunisierung des Menschen gegen Cholera: Diese Methode besteht in einer Verabreichung einer abgeschwächten (Vaccin I) und danach einer lebenden hochvirulenten Kultur (Vaccin II).

Vaccin I. Bouillonkulturen von Vaccin II werden unter fortwährender Luftzufuhr (Ueberleitung von Luft nach Roux-Yersin bei Diphtherie) bei 39° gehalten, bis sie gerade noch bei Ueberimpfung auf Agar lebensfähige Keime aufweisen, diese von den letzten überlebenden Vibrionen erhaltene Agarkultur wird wieder auf Bouillon unter Luftdurchleitung gezüchtet usf., Haffkine erhält so schließlich abgeschwächte Stämme, die bei Meerschweinchen subkutan keine Nekrosen veranlassen.

Vaccin II. Peritonealexsudate von Cholerameerschweinchen werden nach 16 Stunden langer Aufbewahrung in vitro auf Meerschweinchen intraperitoneal verimpft, das Exsudat wird wiederum nach Stehenlassen weiter injiziert usf., nach 20—30 Passagen ist die Virulenz des Stammes stark gesteigert und konstant (Virus fixe).

Impfung des Menschen. Zunächst Vaccin I subkutan an der linken Körperseite in der Mitte zwischen unterer Rippe und Hüftbein. Dosis: $^1/_4$ bis $^1/_6$ 24-stündige Agarkultur (37°) für Erwachsene (die Röhrchen haben eine bestimmte Weite, Höhe und bestimmte Menge Nährbodeninhaltes, Abschwemmung der Kultur mit sterilem Wasser).

Nach 5 Tagen an der rechten Körperseite Vaccin II. Dosis wie bei Vaccin I, falls 12 Stunden nach der Injektion von Vaccin I keine stärkere Temperatursteigerung als 38,5—39,5° C aufgetreten war. War die Reaktion stärker, so geht H. mit der Dosierung von Vaccin II herunter ($^2/_3$ der I. Dosis), war die Reaktion schwächer, so steigert er. Lokale Erscheinungen: Infiltration mit Schmerzhaftigkeit (auch der benachbarten Drüsen) oft schon 5 Stunden nach der ersten Injektion, Dauer meist bis $1^1/_2$ Tag. Die zweite Injektion wird besser ertragen. Allgemeinerscheinungen: Uebelkeit, Schwäche, Kopfschmerz, Trockenheit im Munde, zuweilen leichte Diarrhöe. Temperatursteigerung. Rückgang der Erscheinungen zur Norm nach $1—1^1/_2$ Tagen. Nach Strong und Kolle gehen die Erscheinungen erst nach 2—3 Tagen zurück.

d) Abschwächung mittels Passage durch künstliche Nährböden.

Diese Methode wird viel im Laboratorium benutzt. Will man Versuchstiere z. B. gegen Typhus, Cholera immunisieren, so kann man zunächst lange im Laboratorium fortgezüchtete Stämme, die an Virulenz eingebüßt haben, zur Erzeugung der Grundimmunität benutzen.

Man wird dann nicht in dem Maße Tierverluste zu beklagen haben, als wenn man sofort mit hochvirulenten oder ganz frisch isolierten Stämmen die Immunisierung beginnt. Man kann bei Verwendung solcher alten Laboratoriumskulturen sogar meist der vorherigen Virulenzbestimmung entbehren und spart dadurch an Tiermaterial.

Wie schon in Band I ausgeführt worden ist, verhalten sich die Bakterien hinsichtlich ihrer Virulenz bei Uebertragung auf künstliche Nährböden ganz verschieden: Tuberkulosestämme können jahrelang die gleiche Virulenz aufweisen, Pneumokokken, Streptokokken verlieren sie oft schon in der 1. Generation der Züchtung. Neben der Bakterienart spielt dabei aber auch die Stammeseigentümlichkeit eine Rolle, weiterhin die Beschaffenheit des Nährsubstrats, die Züchtungstemperatur, das Tempo der Generationsfolge, die Art der Aufbewahrung usf.

Daraus folgt, daß für diese Art der Abschwächung bestimmte Vorschriften nicht gegeben werden können.

Es zeigt sich mehr und mehr, daß bei längerer Fortzüchtung oder, wie man zu sagen pflegt, bei allmählicher Anpassung an die saprophytische Lebensweise der Rezeptorenapparat des Bakterienzellleibes eine Aenderung erfährt, man wird deshalb diese Methode nur zur Einleitung der Immunisierung in Betracht ziehen. In vielen Fällen nimmt man diese Passagezüchtung so vor, daß man ganz bestimmte Nährböden eventuell mit Zusatz bestimmter Stoffe wählt: siehe Ab-

schwächung durch chemische Mittel S. 18. Hier seien nur 2 Beispiele angeführt:

1. Als einen zur Abschwächung von Rindertuberkelbacillen geeigneten Nährböden empfehlen Calmette & Guérin Kartoffelstücke, welche in Ochsengalle mit 5 Proz. Glyzerin gekocht sind bei einem Ueberschuß dieser Flüssigkeit. Die auf solchem Substrat gezüchteten Rindertuberkelbacillen wurden nach intravenöser Applikation von Rindern gut vertragen (reichliche Bildung von Agglutininen, Präzipitinen).

2. Nach Markoff werden Rauschbrandkulturen durch Züchtung auf gewöhnlicher Nährbouillon mit Zusatz von Traubenzucker (2,5 bis 5 Proz.) und ameisensaurem Natron (0,5 Proz.) schon nach 1 bis 2 Tagen so abgeschwächt, daß sie nun zur Immunisierung von Meerschweinchen verwendet werden können (subkutan 0,7 ccm, Infizierung nach 12—14 Tagen).

e) Abschwächung mittels Tierpassage.

1. Die Methoden dieser Gruppe folgen dem durch die Schutzpockenimpfung gegebenen Paradigma: so wie hier es gelingt, das Menschenpockenvirus (Variola) durch Verimpfung auf Kälber zu dem Kuhpockenvirus (Vaccine) abzuschwächen, das nun wiederum zur aktiven Immunisierung des Menschen dient, so ist es auch gelungen, die Virulenz anderer Infektionserreger mittels Durchganges durch den Körper anderer Tierrassen soweit herabzusetzen, daß sie nun als Antigene verwendet werden können.

Es ist dabei zu unterscheiden, ob man das Antigen von natürlich infizierten Organismen bezieht (direkt oder nach Reinkultivierung, z. B. Typus humanus von menschlicher Tuberkulose) oder ob wir durch das Experiment uns Passagestämme verschaffen (Tollwut, Kaninchenpassage).

Wie alle biologischen Methoden, so ist auch diese komplexer Art und erfordert eine ganze Reihe von Vorsichtsmaßregeln und Kunstgriffen.

Das lehrt schon der Versuch, das menschliche Pockenvirus durch Verimpfung auf das Rind in Kuhpockenvirus, also Variola in Vaccine überzuführen: Dieser Versuch gelingt durchaus nicht leicht. Von Wichtigkeit dabei ist,

a) daß das Variolavirus dem Pockenkranken zur richtigen Zeit entnommen wird, die Pockenpustel muß sich noch in einem frühzeitigen Stadium befinden.

b) Es sind nicht nur die flüssigen Bestandteile der Pockenpustel, sondern auch die umgebenden Gewebselemente für die Impfung beim Rind zu verwenden (Abheben der Pocke mittels Kürette, Abschaben des Pustelbodens, Verreibung mit Glyzerin zu feiner Emulsion).

c) Es sind bei dem zu impfenden Tier große Kontaktflächen anzulegen, entweder größere Impfschnitte als gewöhnlich oder Wundreiben größerer Hautflächen mittels Glaspapiers, energisches Einreiben der Variolalymphe.

Auch in anderer Beziehung verdienen die bei dieser Variolaabschwächung gemachten Erfahrungen Beachtung: Der Inhalt der auf der Haut der Rinder erstmalig angegangenen Pusteln ruft, wie Fischer zeigte, zunächst beim menschlichen Impfling stärkere Erscheinungen

hervor, wie die gewöhnliche Vaccine, ja es kann diese I. Generation der Variolavaccine (d. i. die durch Verimpfen von Variolamaterial beim Rind erhaltene Lymphe) sogar Allgemeinausbruch sekundärer Pusteln beim Impfling veranlassen. Wird hingegen die Variolavaccine von Rind auf Rind weiter geimpft, so ergibt ihre Inokulation beim Menschen die reguläre, gutartige, lokale Pustelentwickelung. Nach MEDER & STUMPF kann das schon in der II. Generation der Fall sein.

Daraus folgt, daß die Abschwächung des Variolavirus innerhalb des weniger empfänglichen Rinderorganismus eine gewisse Zeit, d. h. eine Generationsfolge erfordert, ein Umstand, der auch bei den noch zu erwähnenden Methoden dieser Gruppe mehr und mehr berücksichtigt werden sollte.

Da diese direkte Ueberführung des Pockenvirus in die zur aktiven Immunisierung des Menschen geeignete Vaccineform erheblichen Schwierigkeiten begegnet, so kann man auch den Umweg über den Affen oder namentlich das Kaninchen wählen, die hierbei anzuwendende Methodik ist noch nicht völlig sichergestellt. Ueber die reichste Erfahrung hierüber verfügt VOIGT[1], der junge Kaninchen bevorzugt und zur Inokulation Pockenborken + flüssigen Pockeninhalt + Pockengewebe verwendet. Von 14 Kaninchen, die VOIGT variolisierte, zeigten 5 papulöse Eruptionen, die Uebertragung dieser Lapine (Leporine) auf das Kalb macht keine Schwierigkeit, so daß dieses einfache Verfahren der kostspieligen Affenpassage vorzuziehen sein dürfte. Auch der Hase eignet sich.

Die Impfung der Kaninchen (am besten eignen sich junge weiße) geschieht in der Weise, daß man zunächst den Rücken rasiert. Nach CALMETTE & GUÉRIN[6] genügt diese Präparation des Impffeldes, da durch das Rasieren die Haut genügend exkoriiert wird, um der aufgestrichenen Lymphe ein Haften zu ermöglichen. Das Haften wird befördert, wenn man die rasierte Stelle noch mit Sandpapier abreibt. Dies Abreiben ist stets erforderlich, wenn man die Haare nicht durch Rasieren, sondern mittels Caliumhydrosulfid entfernt. 2 bis 3 Tage nachher entwickeln sich Papeln, die die Neigung haben, rasch einzutrocknen, die Kürettierung erfolgt am besten spätestens nach 3 Tagen.

Ueber die weitere Methodik der Impfung gegen Pocken, Lymphgewinnung usf. vgl. Bd VI, Pocken.

2. Methode der PASTEURschen Schweine-Rotlaufimpfung.

Prinzip: Rotlaufvirus wird bei Passage durch das Kaninchen weniger virulent für Schweine, bei Passage durch Tauben stärker virulent für Schweine.

PASTEUR & THUILLIER stellten fest, daß die mit Kaninchenvirus (Blut der infizierten Kaninchen) geimpften Schweine gegen tödliche Rotlaufdosen geschützt waren. Später gestaltete sich das Immunisierungsverfahren so, daß die Schweine zunächst das schwächere Kaninchenvirus (Vaccin I) und 12 Tage später das stärkere Taubenvirus (Vaccin II) erhielten.

Die Darstellung der zurzeit im Handel befindlichen PASTEURschen Impfstoffe ist nicht bekannt, sie stellen abgeschwächte Rotlaufbouillonkulturen dar.

Anwendung: Pro Schwein zunächst 0,125 ccm Vaccin I subkutan; 12, höchstens 15 Tage später die gleiche Menge Vaccin II, ebenfalls subkutan. Impfstelle: Innenfläche der Hinterschenkel. Die Immunität stellt sich 2 bis 3 Wochen nach der letzten Impfung ein.

Reaktion: bei jüngeren Tieren 2—6 Tage nach der Impfung Temperatursteigerung, gestörtes Allgemeinbefinden. Aeltere Tiere reagieren stärker, häufig

mit Rotlaufinfektion leichten Grades, mitunter Nachkrankheiten (Endocarditis). Auch tödliche Infektion. Bestes Impfalter: Tiere von 2—3 Monaten.

Nachteil der Methode: Propagation der Rotlaufbacillen durch die geimpften Tiere (Ausscheidung durch Intestinaltractus), Gefährdung gesunder Tiere. Werden zu Epidemiezeiten in Inkubation befindliche Tiere geimpft, so wirkt die Impfung stark schädigend. Für den Erfolg der Impfmethode ist auch die Tatsache von Belang, daß die verschiedenen Schweinerassen eine sehr verschiedene Empfänglichkeit für Rotlauf überhaupt, sowie für die Vaccinkultur besitzen.

3. Tuberkulosevaccins.

Von allen Immunisierungsmethoden, die an die JENNERsche Schutzpockenimpfung sich anlehnen, verdienen die für das Gebiet der Tuberkulose bearbeiteten die größere Beachtung.

Man verwendet lebende Tuberkelbacillen als Impfstoff, die entweder eine natürlich schwache Virulenz gegenüber dem zu impfenden Organismus besitzen (Typus humanus, Impfung auf Rind) oder man schickt die für eine Tierart virulenten Bacillen absichtlich durch wenig oder nicht empfängliche andere Tierarten, um die Abschwächung zu erreichen (Typus humanus, Passage, Huhn, GRAMATSCHIKOFF).

Beispiele für Methoden der Tuberkuloseimmunisierung mit natürlich schwachvirulenten Stämmen sind zu finden bei HÉRICOURT & RICHET, die Hunde durch intravenöse Impfung mit Geflügeltuberkelbacillen gegen menschliche Tuberkulose immunisieren wollten, dasselbe versuchte BABES[3], RICHET wandte den gleichen Immunisierungsmodus auch bei Affen an. Hierher gehören auch die Versuche von VALLÉE, einen vom Pferd gewonnenen Tuberkulosestamm als Antigen bei Rindern zu verwenden. Kaltblütertuberkelbacillen sind mehrfach als Antigen benutzt worden: TERRE versuchte mit dem Karpfenbacillus Meerschweinchen gegen die Infektion mit Säugetier- und Hühnertuberkulose zu immunisieren, MOELLER nahm die Bacillen der Blindschleichentuberkulose (Meerschweinchen, Kaninchen, Affen), FRIEDMANN einen Schildkrötenbacillus bei Meerschweinchen, Rindern usf., R. KOCH, SCHÜTZ, NEUFELD, MIESSNER bedienten sich versuchsweise ebenfalls der Blindschleichentuberkelbacillen bei Ziegen, desgleichen WEBER & TITZE der Kaltblütertuberkelbacillen bei Rindern.

Hier schließen sich die Versuche von DIEUDONNÉ an, Säugetiertuberkelbacillen, die mehrfach von Frosch zu Frosch geimpft waren, schließlich zur Immunisierung von Meerschweinchen gegen virulente Säugetiertuberkelbacillen zu benutzen.

KLIMMERS Antiphymatol besteht nach KLIMMERS Angaben aus lebenden humanen Tuberkelbacillen, die durch längere und wiederholte Passage durch Kammolche in einen avirulenten Zustand übergeführt sind. Nach WEBER & TITZE ist es wahrscheinlich, daß es sich um Kaltblütertuberkelbacillen handelt. Kritik der Versuche mit KLIMMERS Impfstoff u. a. bei EBER[2], WEBER & TITZE, RÖMER[1], letzterer ebenso wie EBER fanden die Bacillen in dem Impfstoff abgetötet, ebenso BROLL, wenn er bei 37° züchtete, bei Zimmertemperatur wuchsen sie nach BROLL in wenigen Tagen auf gewöhnlicher Bouillon und auf Agar ohne Glyzerinzusatz.

Die KLIMMERsche Methode der Schutzimpfung dürfte sich demnach der von FRIEDMANN empfohlenen anschließen, der, wie erwähnt, einen Schildkrötentuberkelbacillus als Antigen benutzte. FRIEDMANN selbst hält diesen übrigens ebenfalls für einen abgeschwächten menschlichen Tuberkelbacillus. Nachprüfung durch LIBBERTZ und RUPPEL.

Weber & Titze konnten bei 3 Rindern (7 Monate alt) nach intravenöser Vorbehandlung mit 0,05 g Kaltblütertuberkelbacillen, der 2 Monate später die Behandlung mit 1 g und 5 Monate später eine weitere mit 1 g folgten, nur eine äußerst geringe Widerstandsfähigkeit gegen die 1 Monat bzw. 4 Monate nach der letzten Immunisierungsinjektion intravenös verabreichte Dosis von 0,005 g Perlsuchtbacillen beobachten. Einen solchen geringen Grad der Resistenzerhöhung vermochte auch die in gleicher Weise geübte Verabreichung von Timotheebacillen herbeizuführen. Hingegen führte eine einmalige intravenöse Injektion von 0,05 g der Fischtuberkelbacillen von Bataillon & Terre, der Moellerschen Blindschleichentuberkelbacillen sowie der Timotheebacillen eine Erhöhung der Widerstandsfähigkeit nicht herbei.

Ueber die geringgradige Beeinflussung der Meerschweinchentuberkulose durch voraufgehende Behandlung mit säurefesten Bacillen s. die Arbeiten von Moeller, Klemperer, Friedmann, Koch-Schütz-Neufeld-Miessner.

v. Wassermann bezeichnet die durch Schildkrötenbacillen bei Meerschweinchen erzeugte relative Immunität als „erschwerte Superinfektion".

Lignières suchte Hühnertuberkelbacillen zunächst an den Rindsorganismus anzupassen und dann als Antigen bei Kälbern zu verwenden: er hielt diese Bacillen $1^1/_2$ Jahr innerhalb von Kollodiumsäckchen im Rinderperitoneum. Danach dreimalige Einverleibung an junge Kälber per os in zweimonatlichen Zwischenräumen.

Bei anderen Versuchen weicht die Methode von den erwähnten darin ab, daß neben der Immunisierung mit dem lebenden, für andere Tierarten stärker, für den Impfling weniger virulenten Virus künstliche, chemische oder physikalische Abschwächungsmethoden Verwendung fanden, so z. B. bei der Immunisierung von Kaninchen mit Geflügeltuberkelbacillen, für die ja dieses Tier eine gewisse Empfänglichkeit besitzt. Grancher & Ledoux-Lebard suchten zunächst eine Grundimmunität intravenös mit getrockneten Geflügeltuberkelbacillen herbeizuführen, um dann langsam ansteigende Dosen der virulenten Kultur zu verabreichen.

Grancher & H. Martin benutzten verschieden alte Kulturen bei Kaninchen: sie begannen mit 4—5 Jahre alten, um dann nach einer größeren Reihe von vorsichtig gesteigerten Impfungen schließlich 14 Tage alte, virulente Kulturen der Geflügeltuberkulose einzuverleiben.

Die bei weitem wichtigsten Tuberkuloseimpfstoffe dieser Gruppe sind:

α) Bovovaccin und
β) Tauruman.

α) v. Behrings Impfung mit Bovovaccin.

Prinzip: Rinder werden mit für sie schwachvirulenten lebenden Tuberkelbacillen menschlicher Herkunft gegen Rindertuberkulose immunisiert.

Impfstoff: Eine aus menschlicher Lungentuberkulose stammender, seit 15 Jahren im Marburger Institut auf Glyzerinbouillon fortgezüchteter Stamm.

Da sich unter den für diesen Stamm angewandten Züchtungsbedingungen die Virulenz besonders konstant zu erhalten scheint, so sei hier auch die Herstellung des Nährbodens wiedergegeben (nach H. RÖMER).

Gut zermahlenes Pferde- oder Rindfleisch wird mit gleichen Teilen Wasser versetzt und bleibt 12 Stunden in der Kälte stehen. Danach Kochen im Autoklaven bei ca. 100° 5—6 Stunden lang, filtrieren. Das klare Filtrat wird mit 3 Teilen Wasser verdünnt, mit 2 Proz. Pepton Witte, 3 Proz. Glyzerin und 0,5 Proz. Kochsalz versetzt und durch Zusatz von Natronlauge bis zur schwach alkalischen Reaktion (gegen Lackmus) neutralisiert. Auffüllen auf 500-ccm-Kolben, Sterilisieren im strömenden Wasserdampf von 100° an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 1 Stunde lang. Zur Beimpfung werden junge Bouillonkulturen verwendet, bei denen die Bacillenhaut noch relativ dünn ist.

Die Kulturen bleiben 4—6 Wochen bei Bruttemperatur, die Bacillenhäute werden sodann auf einer Nutsche abfiltriert, im Vakuum 24 Stunden lang über Schwefelsäure getrocknet, leicht angerieben, mit Kochsalz vermengt und in kleine Röhrchen abgefüllt in 2 Packungen, die 5 und 20 Immunisierungs-Einheiten enthalten.

1 IE. entspricht 0,004 g Trocken-Tb., diese Dosis wird für die Erstimpfung eines Rindes verwendet. 5 IE. stellen die Dosis für die 12 Wochen später erfolgende Zweitimpfung dar = 0,02 g Tb.

1 IE. Trocken-Tuberkulin entspricht 0,02 g frischer Tuberkelbacillen. Zur Herstellung der Emulsion wird der Inhalt eines Röhrchens in steriler, innen rauher Reibschale mit einigen Tropfen sterilen Wassers 1 Minute lang sorgfältigst verrieben und dann nach und nach — innerhalb von 2 Minuten — mit $^2/_3$ des im ganzen zu verwendenden Wassers (10 bzw. 40 ccm) angerührt und in einen sterilen Maßzylinder gebracht. Der Rest des Wassers dient zum Nachspülen des in der Reibschale noch haftenden Restes der Emulsion. 2 ccm der Emulsion = 1 IE. Die Kochsalzzugabe zu dem Trockenvaccin ist so bemessen, daß nach Zugabe von 10 ccm (zu 5 IE.) oder 40 ccm (zu 20 IE.) eine 1-proz. Kochsalzlösung entsteht. Soll eine stärkere Verdünnung gewählt werden, so muß die Stammemulsion mit steriler 1-proz. Kochsalzlösung entsprechend verdünnt werden.

Neuerdings wird Bovovaccin gleich in gebrauchsfertiger Emulsion (in physiologischer Kochsalzlösung) geliefert, die Emulsion enthält in einem Kubikzentimeter 1 IE. und wird in Fläschchen zu 5—100 ccm abgegeben. Für jede Impfung werden als Impfdosis 5 ccm = 5 IE. vorgeschlagen: es wird an Stelle der oben erwähnten Doppelimpfung nur je 1 Impfung vorgenommen, und zwar zu Beginn des 1., des 2. und des 3. Lebensjahres. Vor Licht geschützt und im Kühlen hält sich die Emulsion in dem verschlossenen Fläschchen 30 Tage lang unverändert.

Die Impfungen geschehen intravenös (Vena jugularis), die Emulsionen werden auf etwa 30° vorgewärmt. Die Impfung älterer Rinder ist nicht angezeigt, sind diese infiziert, so stellt sich nach der Impfung mit Bovovaccin Fieber ein, Abnahme der Freßlust, mitunter pneumonische Erkrankung. Es wird empfohlen nur Rinder bis zu 12 Wochen zu impfen, je früher, desto besser. Sie sind in den ersten 3 Monaten nach der Schutzimpfung sorgfältig vor Tuberkuloseinfektion (Milch!) zu schützen.

Es ist daran zu erinnern, daß es sich bei dem Bovovaccin um lebende menschliche Tuberkelbacillen handelt. Sie sind allerdings etwas abgeschwächt. Aber trotzdem muß das Hantieren mit dem Impfstoff zu größter Vorsicht mahnen, und es darf nicht außer acht gelassen werden, daß damit lebende Organismen zu Trägern von menschenvirulenten Tuberkelbacillen gemacht werden. Ueber die Haltbarkeit der Tuberkelbacillen der Bovovaccine im Rindskörper unterrichten Versuche von WEBER & TITZE, SCHÜTZ & HOLLAND: bei einem Rind, das $3^1/_2$ Monate nach der Zweitimpfung geschlachtet wurde, wiesen Lunge, Bronchial-, Mediastinal-, Bug- und Nierendrüsen noch Bovovaccinbacillen auf. 5 Monate nach der Zweitimpfung waren die Rinder frei von Impfbacillen.

Ein weiterer Ausbau des Bovovaccinverfahrens geht dahin, der mit diesem Antigen gesetzten Grundimmunitiät Nachimpfungen mit Rindertuberkelbacillen folgen zu lassen (v. BEHRING, TH. SMITH u. a.)

Eine Zusammenstellung der mit Bovovaccine erhaltenen Resultate geben Weber & Titze[1], wobei sie gleichzeitig die von den verschiedenen Autoren gewählten Modifikationen des Verfahrens anführen und eigene Versuche anschließen. (Weiteres über Impfresultate s. Bd. IV). Weber & Titze tadeln — ebenso wie andere Autoren — die Unregelmäßigkeit des Präparats: sie fanden unter 16 verschiedenen Operationsnummern des Impfstoffs zwei für Meerschweinchen nicht infektiöse, bei einer dritten Probe erkrankten von vier geimpften Tieren nur drei an Tuberkulose, bei einer vierten Probe von vier geimpften nur eins. Dieser geringere Gehalt des Bovovaccins an virulenten oder lebenden Tuberkelbacillen unterscheidet ihn vom Tauruman. v. Behring[1] bringt die Unterschiede der Virulenz des Impfstoffs mit dem Alter in Zusammenhang, es tritt fortschreitende Abschwächung ein.

β) Impfung mit Tauruman (R. Koch & Schütz.

Prinzip: wie oben.

Impfstoff: Koch-Schütz-Neufeld-Miessner konnten mit den verschiedensten Stämmen des Typus humanus Rinder gegen hochvirulente Perlsuchtbacillen immunisieren. Am besten eignen sich Glyzerinbouillonkulturen im Alter von 30—40 Tagen, sie lassen sich leichter gleichmäßig verteilen als Glyzerinagarbrocken.

Die Bouillonkulturen werden durch Fließpapier filtriert, die auf dem Filter gebliebene Masse mit Hilfe eines Platinspatels so lange auf Fließpapier ausgepreßt, bis dieses trocken bleibt. Von der getrockneten Bacillenmasse wird die gewünschte Menge abgewogen und im Achatmörser allmählich mit 10 ccm 0,8-proz. Kochsalzlösung verrieben. Die Impfung soll nur an gesunden Rindern, wenn irgend möglich, schon im ersten Lebensmonat erfolgen. Aeltere Rinder erkranken zuweilen schwer. Die Injektion geschieht in die Dorsalvene. Die Injektionsdosen sind 1—3 cg, sie werden gut vertragen. Die Impfdosis der käuflichen Emulsion beträgt 10 ccm (ohne Rücksicht auf das Alter für jedes Rind).

Immunität tritt nach Verlauf von ca. 3 Monaten ein.

Nachprüfung z. B. bei Weber & Titze[2].

Der von Koch & Schütz verwandte Impfstoff wird unter dem Namen Tauruman von den Höchster Farbwerken hergestellt und vom Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. staatlich geprüft: auf Gehalt an Tuberkelbacillen, auf etwaiges Vorhandensein verunreinigender Mikroorganismen, auf Virulenz.

Prüfung des Taurumans.

Otto schreibt: „Das Tauruman ist in Glasröhrchen zu 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschmolzen, in welchen 0,02—0,04 g lebender Tuberkelbacillen enthalten sind.

Die amtliche Prüfung besteht aus einer fortlaufenden und einer periodischen Prüfung. Die letztere ist eine alle 3 Monate zu wiederholende Virulenzprüfung des Impfstoffes an Meerschweinchen und Kaninchen. Die Virulenz bzw. Avirulenz des Impfstoffs diesen Tierspecies gegenüber muß der seinerzeit mit der Standardemulsion im Institut ermittelten entsprechen. Um dies zu prüfen, erfolgt die subkutane Impfung von Meerschweinchen mit 0,001 g Kultur (= 0,5 ccm des Impfstoffs) und die intravenöse bzw. subkutane Injektion von Kaninchen mit 0,001 bzw. 0,01 g Kultur (= 0,5 bzw. 5,0 ccm des Impfstoffs).

Die fortlaufende Prüfung erstreckt sich auf alle in den Handel gebrachten Impfstoffserien. Da der Impfstoff möglichst frisch zur Anwendung kommen soll, so können hier nur Prüfungen vorgenommen werden, die im Laufe weniger Tage ausführbar sind. Daher beschränkt sich diese Prüfung darauf:

1) Das Präparat auf verunreinigende Bakterien zu untersuchen und 2) die Mengen der in jeder Impfdosis enthaltenen Bakterienmasse zu kontrollieren. Das letztere geschieht durch Bestimmung des Sediments nach scharfem halbstündigen Zentrifugieren in graduierten Zentrifugierröhrchen unter gleichzeitiger Benutzung einer Kontrollemulsion, von welcher im Institut Proben aufbewahrt werden. Die einzelnen Röhrchen*) sind vor dem Gebrauch auf Gleichmäßigkeit durch Zentrifugieren mit Blutkörperchenaufschwemmung geprüft. Gestalt und Anwendungsweise erhellen aus Abbildung 1.

*) F. u. M. Lautenschläger, Berlin.

Für die Beurteilung der Taurumanimpfung als Methode gilt im großen und ganzen dasselbe, wie das bei Bovovaccin Angeführte: auch Tauruman ist ein lebendes menschenpathogenes Tuberkulosematerial, entsprechend der Darstellungsweise ist es stärker virulent als Bovovaccin, es darf daher erst recht nicht bei milchliefernden Tieren verwendet werden. Untersuchungen über die Haltbarkeit der Tuberkelbacillen des Impfstoffs im Organismus der Impflinge veröffentlichen Weber, Titze, Schütz & Holland. Sie fanden nach intravenöser

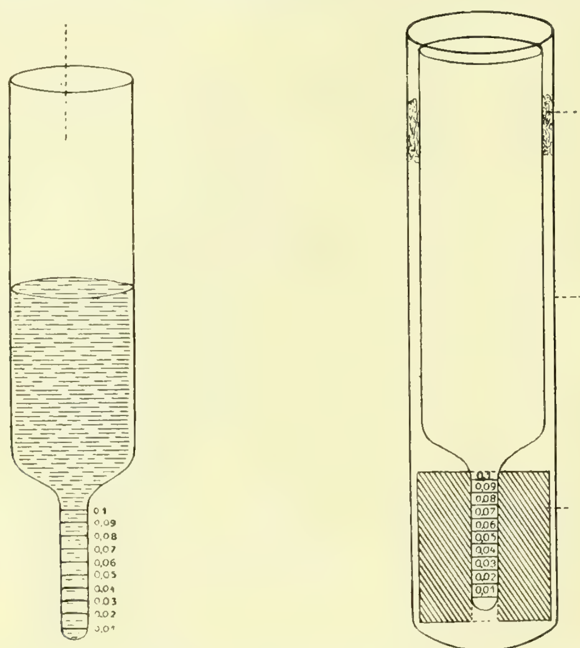


Fig. 1. Aus Otto, Die staatliche Prüfung der Heilsera, Jena, G. Fischer, S. 79.

Injektion die Bacillen im Blut nach 8 Tagen nicht mehr, hingegen nach 1 Monat in allen inneren Organen, 6 Monate nach der Impfung noch in Lungen, Bronchial- und Mediastinaldrüsen, nach 7 Monaten gelang ein Nachweis nicht mehr. Zu berücksichtigen ist auch, daß bei der intravenösen Injektion mitunter Portionen des Impfstoffes in die Subcutis gelangen, es bildet sich dann eine Geschwulst, die aufbrechen kann. Bei Rückgang der Geschwulst bleibt eine schwielige Verdickung zurück, innerhalb deren noch nach $1^1/_2$ Monaten Tuberkelbacillen lebend zu finden waren.

Thomassen empfiehlt zur Rinderimmunisierung eine dreimalige Impfung mit 1 mg, 1 cg und 2 cg einer schwachvirulenten, frischgezüchteten Kultur des Typus humanus. Die Impfungen erfolgen im Zwischenraum von 4 Wochen.

Nach den Versuchen von Weber & Titze[1] ist die erhöhte Widerstandsfähigkeit, die Rinder durch intravenöse Behandlung mit lebenden Bacillen des Typus humanus erhalten, nur eine vorübergehende, die in der Regel nur 2 Jahre anhält. Leisten die Tiere der

Nachimpfung mit virulenten Perlsuchtbacillen Widerstand, so wird damit die Immunität nicht erhöht, RÖMER[1] steht auf dem gegenteiligen Standpunkt.

Daß man bei der Immunisierung von Rindern mit dem humanen Tuberkelbacillus verschiedene Resultate mit verschiedenen Stämmen erhalten muß, erklärt sich aus der Verschiedenheit der Stammeseigentümlichkeiten dieser Kulturen. Neuerdings macht TH. SMITH[5] besonders darauf aufmerksam, daß sichere humane Stämme eine ganz bedeutende Rindervirulenz besitzen können (Todesfälle, ferner Auftreten von tuberkulösen Pneumonien etc. nach intravenöser Applikation). Vorprüfung eines solchen Antigens bei Kaninchen deckte dieses abweichende Verhalten des Typus humanus nicht auf, denn der Stamm war noch weniger virulent für Kaninchen als der Durchschnitt der humanen Typen.

Immunisierung von Rindern zum Zweck der Gewinnung von Tuberkuloseantikörpern (auf der Basis der Tuberkulinüberempfindlichkeit):

Da zur Erzielung der bisher nachweisbaren spezifischen Antikörper bei Tuberkulose der tuberkulöse oder tuberkulinempfindliche Organismus besonders geeignet ist, so beschäftigen sich die Methoden der aktiven Immunisierung gegen Tuberkulose vor allem mit diesen Organismen. Will man Antikörper im Serum gewinnen, so verwendet man am besten gesunde Tiere (Pferde, Rinder etc.), die mit Aufschwemmungen von lebenden humanen Tuberkelbacillen (intravenös, Rind: 0,01 g lebende Tuberkelbacillen in 10 ccm physiologischer NaCl-Lösung) überempfindlich gegen Tuberkulin gemacht sind. Diese Ueberempfindlichkeit, die nach 4 Wochen nachweisbar ist, kann nur durch in Pausen von 4—5 Tagen erfolgende weitere Tuberkulinimpfungen (Steigerung von 1 auf 20—50 ccm) zum Schwinden gebracht werden. Zur Erzielung von Antikörpern wird nunmehr das Rind mit steigenden Mengen lebender humaner Tuberkelbacillen (bis 2 g) behandelt. Um diese Antikörperproduktion zu steigern, werden die Tiere von neuem überempfindlich gemacht, und zwar durch Injektion von bovinen Tuberkelbacillen (vermischt mit humanen, je 0,01 g intravenös). Nach Auftreten der erneuten Tuberkulinempfindlichkeit wird diese wieder durch Tuberkulin beseitigt, schließlich Behandlung mit Typus bovinus usf. (s. unter Patentschrift Nr. 223758, sowie RUPPEL & RICKMANN).

5. Methode mit Blacklegine nach THOMAS: Das Rauschbrandvirus wird mittels Passage durch den Frosch abgeschwächt, mit solchem Virus durchsetzte Seidenfäden werden mit einer besonders konstruierten Impfnadel in die Unterhaut des Schwanzes eingeführt. Nach THOMAS entwickelt sich um den Seidenfaden herum in der Subcutis eine Rauschbrandkultur, die lange Zeit hindurch eine fortdauernd immunisierende Wirkung auf das geimpfte Tier entfaltet. THOMAS wies in einem Falle noch 328 Tage nach der Impfung lebendes Virus zwischen den Seidenfäden nach.

Die Methode hat den Vorteil, daß sie sehr einfach zu handhaben ist, die Impfung erfolgt einmalig. Nach Beobachtungen von VIASZ sowie WARRINGSHOLZ scheint aber die Annahme von THOMAS, daß das Virus eine fortdauernd aktive Immunisierung herbeiführe, nicht zuzutreffen. Von manchen Seiten ist der Impfstoff mit fremden Bakterien verunreinigt gefunden worden, was durch die Imprägnierung der Fäden mit abgeschwächter Reinkultur zu vermeiden ginge.

5. Die Methode der Virusabschwächung durch Tierpassage ist von PASTEUR auch für die Tollwut mit Erfolg verwendet worden.

Ursprünglich schwächte PASTEUR das Straßenwut-Virus durch Affenpassage ab, das Affenmark wurde Kaninchen subdural injiziert, und von diesen Tieren das Virus gewonnen: mit solchem Virus konnten Hunde gegen subdurale Infektion mit Straßenvirus geschützt werden.

Diese Methode ist verlassen, es findet heute lediglich die Kaninchenpassage statt. Es muß namentlich nach den Versuchen von BABES, BUJWID, NITSCH usf. als sichergestellt gelten, daß die Kaninchenpassage in der Tat die Virulenz des Virus für den Menschen stark vermindert.

6. Auch für die Schutzimpfung gegen Maul- und Klauenseuche ist nach LÖFFLER[1] ein durch Tierpassage modifiziertes Virus verwendbar: impfte er das Rindervirus auf Ferkel von bestimmter Rasse, so gewann er eine Impflymphe, die Rindern eine monatelange Immunität verlieh, ohne sie krank zu machen.

7. Vgl. auch KONEW und L. VOIGT: Das Schafpockenvirus wird subkutan Ziegen unter die Haut gespritzt und von Ziege zu Ziege fortgeimpft; schon bei der 3. Passage ist das Virus so abgemildert, daß es als Antigen bei Schafen brauchbar ist (Ovine, Caprine). Bei der Ziege selbst verursacht das Virus nach der 15. Generation nur noch lokale Entzündung.

8. Das Prinzip, ein für Tiergattung a virulentes Virus auf die weniger empfängliche Tiergattung b zu übertragen und dies dadurch zur Abschwächung gebrachte Virus als Antigen bei Tiergattung a zu benutzen, hat sich auch bei Erkrankungen, die durch Protozoen herbeigeführt sind, als richtig erwiesen.

α) 1897 konnte R. KOCH[7,8] virulente Trypanosomen vom Tsetserind durch eine Ratten- und darnach eine Hundepassage in ihrer Virulenz soweit herabmindern, daß nach ihrer Verimpfung die hochempfänglichen Rinder nunmehr nur eine leichte Infektion erlitten und sich resistent gegenüber vollvirulentem Tsetsevirus zeigten (mindestens 6 Jahre lang), auch bei wiederholten Infizierungsversuchen. Die gleiche Methode der Rinderimmunisierung wandten SCHILLING NOCARD, MARTINI an.

Diese Methode leidet an dem Mangel, daß die eintretende Immunität nur gegenüber bestimmten Naganastämmen in die Erscheinung tritt, gegenüber anderen ist sie wirkungslos. R. KOCH machte darauf aufmerksam, daß eines der oben erwähnten erfolgreich immunisierten Rinder noch nach 6 Jahren Trypanosomen in seinem Blut beherbergte, die zwar nicht mikroskopisch direkt, aber durch den Hundeversuch nachgewiesen werden konnten. R. KOCH fürchtete, daß durch eine künstliche Immunisierung zumal ganzer Rinderherden dauernde Infektionsquellen geschaffen würden, er nahm daher von dieser Methode Abstand. CL. SCHILLING hebt demgegenüber hervor, daß man mitunter ziemlich beträchtliche Quanten Blut den immunisierten Tieren entnehmen müsse (2—20 ccm), um eine Infektion von Ratten oder Hunden herbeizuführen, daß aber eine Tsetsefliege nur Bruchteile eines Kubikzentimeters sauge.

Jedenfalls ist die Methode in gewissen Fällen (Expeditionen durch Tsetsegegenden) anwendbar.

Für den Immunisierungseffekt gegenüber den Trypanosomeninfektionen ist in erster Linie der als Antigen dienende Stamm maßgebend. Die Unterschiede der Virulenz der Naganastämme bestehen

beispielsweise nicht nur in den verschiedenen Landstrichen auch gegenüber ein und derselben Tierart, sondern es können, wie das Beispiel der von KOCH & MARTINI untersuchten Togoponys zeigt, mehrere anscheinend unter ganz gleichen Bedingungen gehaltene Tiere derselben Art die Parasiten in ganz verschiedenem Grade der Virulenz beherbergen.

Es geht nicht an, die Stämme nach ein und demselben Schema abzuschwächen, es bleibt nichts anderes übrig, als eingehende Vorversuche vorzunehmen.

Hier sei auf die Studien MARTINIS verwiesen, der die beiden Naganastämme der oben genannten Barbarponys hinsichtlich ihrer Virulenz und ihrer Eignung als Antigene eingehend prüfte. Der eine hochvirulente Stamm (Togohengst) ließ sich durch Mäusepassage (namentlich weiße Mäuse) für Esel soweit abschwächen, daß diese Tiere noch 7—9 Monate nach der Impfung gesund erschienen, sie zeigten spezifische Schutzstoffe; eine nicht so weitgehende Abschwächung erfuhren die Parasiten bei der Passage durch graue Mäuse, weiße und graue Ratten. Spezifische Schutzstoffe waren auch in deutschen Kälbern nachzuweisen, welche mit Tsetseparasiten der Pferd-Esel-Passage oder der Pferd-Ratte-Hund-Passage geimpft wurden.

Für die praktische Anwendung dieser Immunisierungsmethode ist es von Belang, daß bei genügend lange fortgesetzten Tierpassagen (z. B. durch die weiße Maus) stets eine Steigerung der Virulenz für die betreffende Tierart (weiße Maus) eintritt bis zu einem Maximalwert, der dann sich konstant erhält (Virus fixe).

Auch bei den Immunitätsstudien mit diesen von Pferden bezogenen Naganastämmen stellte es sich heraus, daß die mit dem einen Stamme behandelten Tiere gegenüber dem anderen nicht geschützt zu sein brauchen.

β) Bei der in der norddeutschen Tiefebene vorkommenden Hämoglobinurie der Rinder ist von SCHÜTZ (siehe KOSSEL-WEBER-SCHÜTZ-MIESSNER, ferner MIESSNER) festgestellt, daß erwachsene gesalzene Tiere einen sehr unzuverlässigen Impfstoff liefern, am besten impft man nach SCHÜTZ & MIESSNER Kälber mit dem Blut von Rindern, die einen Anfall überstanden haben. Junge Tiere sind erheblich widerstandsfähiger gegen die Hämoglobinurie, die Piroplasmen erfahren in diesen Organismen eine gewisse Abschwächung, die durch weitere Kälberpassage noch herabgedrückt werden kann. SCHÜTZ & MIESSNER entnahmen das Kälberblut ferner nicht zur Zeit der Höhe der Erkrankung, sondern — um auch die Zahl der Erreger einzuschränken — in der nächstfolgenden Rekonvaleszenzperiode (bis 2 Monate nach der Erkrankung). Der Impfstoff ist 8 Tage lang brauchbar. Dosierung 3 ccm, subkutan am Hals. 20-tägige Stallhaltung Eintritt der Immunität zwischen 14.—20. Tag. Die Impfung ist vor Beginn des Weidebetriebes vorzunehmen.

MIESSNER empfiehlt die Verwendung zweier Impfstoffe: eines stärkeren (virulenteren) für Jungvieh und die jährlich wiedergeimpften Tiere, eines schwächeren für die zum ersten Male zu impfenden älteren Rinder. Der letztere Impfstoff wird von Kälbern bezogen, die nur wenig Piroplasmen bei der Erkrankung aufwiesen, Entnahme 4—6 Wochen nach der Erkrankung. Der stärkere Impfstoff wird von Kälbern mit reichlichen Piroplasmen kurz nach der Erkrankung gewonnen.

γ) Nach MARCHOUX verlieren Hühnerspirochäten bei Züchtung im Küchleinorganismus ihre krankmachende Wirkung. BLAIZOT benutzte dies Antigen, um Hühner gegen stärkeres Virus zu schützen (zweimalige Vorbehandlung). Es trat dann nur leichte Erkrankung auf. Der Erfolg ist aber abhängig von Hühnerrasse usf.

Die angeführten Beispiele der Methoden dieser Gruppe zeigen, daß sie sehr wohl wissenschaftlich begründet und weiteren Ausbaues fähig sind. Voraussetzung ist dabei, daß eine sorgfältige Auswahl und Dosierung des Virusstammes erfolgt, der in seiner Wirksamkeit und Haltbarkeit ununterbrochen zu überwachen ist. Das Beispiel der Schutzpockenimpfung zeigt, daß man imstande ist, auch ein lebendes Virus längere Zeit im gebrauchsfähigen Zustand zu erhalten, hierauf dürfte für die übrigen hier in Betracht kommenden Immunisierungsmethoden in erster Linie das Augenmerk zu richten sein, wenn sie weitere praktische Bedeutung gewinnen sollen.

Wie bei der Impfung mit vollvirulenten, so fällt auch bei der Verwendung abgeschwächter Krankheitserreger für die Beurteilung der Methode in der Praxis vor allem die Tatsache ins Gewicht, daß in dem geimpften Organismus die lebenden Erreger persistieren und zur Verbreitung der Krankheit Anlaß geben können.

Wie schon oben hervorgehoben wurde, ist diese Frage noch nicht genügend bearbeitet. Hier sei noch erwähnt, daß DE SCHWEINITZ, SCHROEDER und COTTON bei einem Rinde, das menschliche Tuberkelbacillen fünfmal intravenös erhalten hatte, noch 10 Monate nach der letzten Injektion in den Lungen meerschweinchenvirulente Tuberkelbacillen nachweisen konnten.

Ebenfalls bei Impfung von Rindern mit menschlichen Tuberkelbacillen zum Zweck der Immunisierung stellte LIGNIÈRES fest, daß die Tuberkelbacillen noch nach 2 Jahren an der Impfstelle (Subcutis) und in den benachbarten Drüsen sich lebensfähig finden können. Vgl. S. 26 u. 28. Weitere Angaben siehe bei WEBER & TITZE, SCHÜTZ & HOLLAND.

Auch die Frage, ob und wie lange die mit menschlichen Tuberkelbacillen geimpften Milchkühe mit der Milch diese Bacillen ausscheiden können, ist im Kais. Gesundheitsamte bearbeitet worden. Nachdem WEBER bei einem Jungrind, das 5 cg menschliche Tuberkelbacillen intravenös, und nach 3, 4 und 6 Monaten je 5 cg subkutan erhalten hatte, noch 16 Monate nach der Letztimpfung menschliche Tuberkelbacillen in der Milch gefunden hatte, sind die Versuche von TITZE auch auf Taurumanimpfung ausgedehnt worden. Aus den Resultaten geht hervor, daß die Ausscheidung der Ausdruck einer jeweiligen Herderkrankung im Euter ist. Dementsprechend ist die Ausscheidung der Tuberkelbacillen durch die Milch sehr unregelmäßig, in einem Falle begann sie in der 3. Woche nach der Impfung und bestand nach 144 Tagen noch fort, in einem anderen begann sie nach 24 Stunden, bestand nach 38 Tagen noch, nach 99 Tagen nicht mehr.

III. Aktive Immunisierung mit abgetöteten Krankheitserregern.

Seit den grundlegenden Versuchen R. PFEIFFERS über das Choleragift ist die Methode der aktiven Immunisierung mit abgetöteten Infektionserregern eine der bedeutungsvollsten geworden: aus jenen Untersuchungen ging hervor, daß die Giftwirkung des Choleravibrio im infizierten Organismus auf das Freiwerden giftiger, spezifischer Leibessubstanzen des Vibrios zurückzuführen ist und daß diese Giftwirkung auch den abgetöteten Vibrionen zukommt. PFEIFFER[1] tötete mit Chloroform, Thymol etc., sowie durch Trocknen ab. L. BRIEGER, KITASATO und WASSERMANN zeigten dann, daß Kulturen von Choleravibrionen auf Thymusbouillon nach Erhitzen auf 65° (15 Minuten lang) ihre Toxizität verloren, aber immunisierend auf Meerschweinchen wirkten. WASSERMANN kam weiterhin nach

Anwendung der verschiedenen Abtötungsmittel zu dem Schluß, daß eine Immunität gegenüber der intraperitonealen Meerschweincheninfektion mit lebenden Choleravibrionen durch die verschiedensten, die toten Bakterien enthaltenden Präparate zu erzielen ist, sofern damit eine leichte Erkrankung, eine Allgemeinreaktion ausgelöst wird. Seitdem gehört diese Methode der Immunisierung zu dem eisernen Bestand der Laboratorien, die Richtigkeit des Prinzips ist bald auch für eine Reihe anderer Infektionserreger wie Typhus, Pest usf. erwiesen worden.

Für die Mehrzahl der Fälle freilich kann die zu Immunisierungszwecken erfolgende Verabreichung abgetöteter Infektionserreger lediglich dazu verhelfen, die ersten Grade der Immunität zu erreichen, in manchen Fällen nur die Grundimmunität: die endgültige, in qualitativer und quantitativer Hinsicht ausreichende Immunität kann eben zumeist nur durch einen den wirklichen Verhältnissen der natürlich erworbenen Immunität nahekommenden Kampf zwischen infiziertem Organismus und infizierenden Parasiten erreicht werden.

Es gibt bisher keinen bindenden Beweis dafür, daß wir imstande sind, durch Applikation toter Infektionserreger alle die verschiedenen Arten von Antikörpern zu erzeugen, über die der immune Organismus nach der natürlichen Infektion schließlich verfügt und die die komplexe Erscheinung der Immunität ausmachen: noch immer lernen wir neue Antikörperarten kennen, die gerade nur bei dem oder jenem Immunisierungsmodus auftreten. Und sollte es schließlich auch gelingen, durch die Verabreichung toter Parasiten die Bildung der einzelnen Antikörper anzuregen, so sind sie doch damit noch nicht in dem richtigen Verhältnis vorhanden.

Es entspricht weit mehr dem biologischen Empfinden, die lebenden Infektionserreger zur Erzielung von Immunität zu verwenden, und in der Tat sprechen die meisten auf experimentellem Wege gewonnenen Beobachtungen dafür, daß dieser Weg der rationellste ist. Das schließt nicht aus, daß zur Erzeugung selbst großer Mengen bestimmter Antikörper die Methode der Einverleibung abgetöteter Parasitenzellen eine außerordentlich brauchbare und zur Herbeiführung der provisorischen Immunität, die dann auch die Zufuhr lebender und virulenter Keime zuläßt, eine beinahe unentbehrliche ist. Man soll sich aber eben nur von Schematismus fernhalten und berücksichtigen, daß es in der Natur der Sache liegt, wenn wir durch die Immunisierung mit toten Zellen allein nicht imstande sind, eine vollwertige Immunität herbeizuführen. Der Hinweis darauf, daß ja viele Bakterienarten, die man lebend injiziert, auch alsbald abgetötet und aufgelöst werden, sodaß es schließlich gleichgültig sein müsse, ob man tote oder lebende Zellen einführe, hängt sehr an der Oberfläche, die beiden Vorgänge sind doch weit verschieden, können sich aber natürlich bei Verwendung bestimmter Bakterienarten, die ihrer Natur oder der Natur des Impflings oder der Impfstelle nach nicht zur Vermehrung kommen, in manchen Fällen wohl nähern.

Und sollte jedweder künstliche Abtötungsmodus die spezifischen Antigene völlig intakt lassen? Das ist auszuschließen. Man wird also von vornherein diesen Immunisierungsmodus als einen Notbehelf ansehen, er schafft vom natürlichen sehr abweichende Verhältnisse, weil die Reproduktionsfähigkeit des Virus und dessen sonstige Lebensäußerungen sowie die hierauf gerichtete Gegenreaktion des Organismus

in Wegfall kommen und weil ein durch das künstliche Abtötungsverfahren sicher verändertes Antigen zur Anwendung gelangt. Beispiele dafür, daß durch die Injektion toter Infektionserreger nicht im entferntesten eine solche Immunität, wie durch das lebende Virus entsteht, bietet die Immunisierung gegen Pest (Kolle & Otto), gegen Streptokokken (Marmorek, Neufeld, Zangemeister) usf.

Da es zu erwarten ist, daß um so tiefergehende molekulare Veränderungen des Bakterienprotoplasmas eintreten werden, je energischer und roher das gewählte Abtötungsverfahren ist, so wird man im allgemeinen so schonend wie möglich vorgehen und sich über das biologische Verhalten der verschiedenen Infektionserreger vorher orientieren müssen. Für manche Fälle wird es aber andererseits erwünscht sein müssen, zur Erzeugung von Grundimmunität noch über das gerade tötende Maß der Schädigung hinauszugehen, da erfahrungsgemäß einige protoplasmatische Stoffe spezifischer und nicht spezifischer Art noch eine weitergehende Abschwächung erfahren müssen, man wird dann allmählich das schädigende Moment weniger intensiv einwirken lassen, damit schließlich der zu immunisierende Organismus die auf die schonendste Art abgetöteten Parasiten verträgt.

Wie schon erwähnt, dient die Herstellung eines Antigens durch Abtötung der Erreger in vielen Fällen lediglich zur Teilimmunisierung; die Anwendung eines solchen Antigens soll nur eine Grundimmunität erzeugen, um auf dieser Grundlage weiter zu kommen. Dieser Behandlung mit abgetöteten Bakterien oder ihren Extrakten läßt man dann in der Regel die Injektion von abgeschwächtem Material folgen.

Eine Methode, die in bezug auf die Graduierung der Abschwächung bis zum Absterben und dann wieder bis zu weitgehender Extraktion der toten Zellen alle möglichen Abstufungen zuläßt, muß für diese Art der aktiven Immunisierung besondere Vorteile gewähren.

Vergleich des immunisierenden Effektes nach Verabreichung toten und lebenden Antigens.

Es ist nach den obigen Ausführungen nicht zu verwundern, daß die Antikörperbildung in qualitativer und quantitativer Hinsicht eine andere sein wird, wenn wir mit lebendem oder künstlich abgetötetem Antigen Tiere behandeln: Das Erwärmen z. B. modifiziert das Antigen (hier ist für Agglutinogen auf die Versuche von Joos, für Agglutinogen und Präzipitinogen auf die Arbeiten von Kraus & Joachim zu verweisen). In der Laboratoriumspraxis pflegt hierauf wenig Rücksicht genommen zu werden. Es scheint aber doch diese Rücksichtnahme in manchen Fällen geboten.

Vergleichende Versuche über Art und Menge der entstehenden Antikörper nach Injektion toter und lebender Bakterien sind freilich erst vereinzelt vorgenommen worden.

Es sei bemerkt, daß derartige vergleichende Versuche nur Wert haben, wenn sie an großen Tierserien angestellt werden zur Ausschaltung der Irrtümer, die durch die verschiedene Individuenresistenz sich einschleichen können.

Quadrone behandelte subkutan Meerschweinchen und Kaninchen, eine Serie mit lebenden virulenten oder abgeschwächten, die andere mit toten Typhusbacillen des gleichen Stammes: die Bildung von

Agglutininen und Bakteriolysinen war bei Verabreichung des lebenden Antigens eine bei weitem stärkere und raschere.

Shoukévitch behandelte Kaninchen mit toten und andere mit lebenden Kulturen des B. suipesticus. Die Resultate waren folgende:

Bac. suipesticus.

	tot	lebend
Serum der behandelten Kaninchen	ist nicht antiinfektiös; enthält reichlich Agglutinine, Opsonine, komplementbindende Antikörper	ist antiinfektiös; enthält wenig oder keine Agglutinine, Opsonine, komplementbindende Antikörper

Die mit lebenden Bacillen vorbehandelten Kaninchen zeigten deutliche Resistenz gegenüber der Infektion, die mit toten Bacillen behandelten waren nicht immun.

Wie Sobernheim & Seligmann[2] feststellten, ist ein durch Injektion toter Mäusetyphusbacillen gewonnenes Serum vielseitiger als das durch Vorbehandlung mit lebenden erzielte. Die Herstellung von Paratyphus-B-Seren gelang leichter mit abgetöteten Bakterien, die von Gärtner- und Paratyphus-A-Seren leichter mit lebender Kultur (intravenös, 5—7-tägige Intervalle). Die erhitzten Gärtner-Bacillen eignen sich deshalb viel schlechter zur Immunisierung, weil sie (intravenös) toxischer wirken als die lebenden. Die auf 70° erhitzten Gärtner-Bacillen wurden schlechter vertragen als die bei 56—65° abgetöteten. Auch ist das durch Injektion der erhitzten Gärtner-Bacillen gewonnene Serum nach Sobernheim & Seligmann unvollkommener (d. h. es wirkt nicht multivalent bei Agglutination).

Da bei Erhitzen der in Kochsalzlösung suspendierten Bakterien Giftstoffe in die Suspensionsflüssigkeit übergehen, so ist es auch nicht verwunderlich, daß unter Umständen sogar abgetötete Kulturen schlechter vertragen werden als lebende (Dysenterieimmunisierung, Selter).

Kontrolliert man den Immunisierungseffekt lediglich mit dem Maßstab der Agglutinine und Bakteriolysine, so liegen die Dinge anders, wenn man für die Injektion der lebenden Keime die Dosis und die Oertlichkeit so wählt, daß es nicht zu einer Vermehrung der Keime kommt, dann werden z. B. die Choleravibrionen nach Einbringung in das Unterhautzellgewebe sehr rasch abgetötet und aufgelöst. Wie Kolle gezeigt hat, ist in solchen Fällen die Dosis der spezifisch als Antigen wirkenden Substanz gleich, ob man lebende oder tote Choleravibrionen benutzt: maß er den Gehalt an Agglutininen und Bakteriolysinen, so fand er den Titer des Serums von Menschen nach Injektion von abgetöteten Vibrionen ebenso hoch wie den nach Immunisierung mit lebenden virulenten Vibrionen.

In allen Fällen aber, wo eine stärkere Vermehrung der eingebrachten Infektionserreger statt hat, wird man eine intensivere Antikörperbildung voraussetzen dürfen, vor allem aber auch eine nachhaltende: denn als ein weiterer Nachteil der lediglich mit abgetötetem Virus erfolgenden Immunisierung wird die relative Kürze der Immunitätsdauer empfunden.

1. Abtötung durch Erwärmen*).

Allgemeines.

Dies Verfahren hat die weiteste Verbreitung gefunden, da es einfach zu handhaben und schnell ausführbar ist. Es bietet bei Beobachtung bestimmter Bedingungen eine große Sicherheit für die Abtötung, man hat es außerdem in der Hand, durch Variierung von Zeit und Temperaturhöhe etwaige Giftstoffe, die bei Injektion der toten Zellleiber schädigend wirken könnten, beliebig abzuschwächen.

Es bedarf noch der näheren Untersuchung, welche Veränderungen infektiöses Material durch die zur Abtötung notwendige Erwärmung erfährt. Von vornherein könnte man annehmen, daß erwärmte Bakterien bei parenteraler Einverleibung leichter aufgelöst und resorbiert werden, als die lebenden, diese Ansicht äußert z. B. auch M. Neisser, R. Koch aber vermied es, durch Wärme abgetötete Tuberkelbacillen als Antigen zu benutzen, da er beobachtet hatte, daß sie besonders schlecht resorbiert werden.

Sehr wenig sind wir ferner darüber unterrichtet, inwieweit durch Erhitzen Bakterienzellbestandteile in die Suspensionsflüssigkeit übertreten. Daß dies überhaupt der Fall ist, lehren die im Kapitel „Extraktion" angeführten Beispiele, hier sei ein Versuch von Buxton & Torrey erwähnt, die Typhusagglutinogen durch $^1/_2$-stündiges Erhitzen auf 72° in einen festen und löslichen Teil spalteten, der letztere ist abfiltrierbar, dies Filtratantigen ruft Bildung von Antikörpern hervor, die auf die normalen Bacillenleiber agglutinierend wirken. Bei beweglichen Bakterienarten wird man nach den verschiedenen Beobachtungen u. a. von De Rossi eine stärkere Loslösung der Geißeln bei dem Erhitzungsakt erhalten, aber es ist auch anzunehmen, daß Plasmainhalt bei dem Erwärmen ausgepreßt oder daß weitere Destruktionen, die zur Auflösung führen (vgl. die Extraktionsmethoden S. 61), statthaben. Die einzelnen Bakterienarten werden da Unterschiede aufweisen und in derselben Kultur werden wieder jüngere und ältere Individuen sich verschieden verhalten. Hierbei muß auf die Art des Aufschwemmungsmediums Rücksicht genommen werden, das gilt vor allem für die Uebertragung der Kulturteile von festen Nährböden (Serum, Agar usf.) in flüssige Medien: hier wird es für den destruktiven Effekt des Erhitzens völlig verschieden sein müssen, ob man in Bouillon, Kochsalzlösung verschiedenen Salzgehaltes, Leitungs- oder gar destilliertem Wasser aufschwemmt.

In jedem Laboratorium kommen Tierverluste, z. B. bei der Immunisierung von Kaninchen gegen Cholera, Typhus usf. vor. Man begnügt sich dann oft mit der gewiß in vielen Fällen zutreffenden Erklärung, daß die verschiedene Resistenz der einzelnen Individuen für die Verluste verantwortlich zu machen ist. Es ist aber zweifellos, daß man auch mit Variierung der Antigenherstellung, auf die man nicht weiter Gewicht legt, weil in der Regel die abgetöteten Bakterien in bestimmten Mengen keinen Schaden anrichten, solche Verluste provozieren kann: es ist bei gewissen Bakterienarten etwas ganz anderes, ob wir lediglich intakte Zelleiber oder ein Material eingeben, das einen mehr oder weniger großen Teil der Plasmastoffe in Lösung hat: sind in dem letzteren Falle größere Bakterienmengen

*) Herstellung und Anwendung der Wrightschen Vaccine s. Bd. 3.

verwendet worden, so kann sehr wohl eine toxische Wirkung auftreten (vgl. das Kapitel Extraktion). Es kommt hinzu, daß mit dem verschiedenen Grade und der verschiedenen Dauer des Schüttelns auch wieder verschieden große Mengen Zelleibsubstanzen sich ablösen. Ferner wird die verschiedene Art des Suspensionsmediums für die Resorption in dem zu immunisierenden Organismus nicht gleichgültig sein. Daß die Dichte der Suspension auch bei Erwärmungsversuchen zu beachten ist, lehren die Beobachtungen.

Im Gefolge solcher verschiedenen Behandlungsweise des Antigens muß die Beschaffenheit und Menge der Antikörper das eine und andere Mal eine verschiedene sein, das wird auch durch die oben erwähnten Versuche von Buxton & Torrey für das Agglutinin bewiesen.

Die Herrichtung des Antigens vor der Erwärmung richtet sich nach der Bakterienart. Man verwendet in der Regel die frischesten und virulentesten Stämme, die man 16—24 Stunden auf dem optimalen Nährboden und in optimaler Temperatur züchtete. Die gleichmäßigste Suspension wird man immer erhalten, wenn man das Kulturmaterial von festen Nährböden abhebt, entweder ösenweise oder indem man den Belag einer Kultur vorsichtig abschwemmt. (Ueber Massenkulturen s. S. 149.) Durchaus notwendig ist es, bei der Herstellung des Impfstoffes eine homogene Suspension zu erhalten: die Kulturbrocken sind gründlich zu zerteilen durch Zerdrücken mit der Platinöse und nachfolgendes Schütteln. Erforderlich ist es auch, daß die von weichen Kulturböden sich ablösenden Nährbodenpartikelchen entfernt werden: zumal bei intravenösen Injektionen ist die Beimengung von Bakterienklumpen oder Nährbodenteilen zu vermeiden, vor allem aber wird dadurch der Erfolg des Erwärmens beeinträchtigt. Wenn solche Beimengungen nicht vermieden werden konnten, so macht sich das Filtrieren der Suspension vor dem Erwärmen nötig, man nimmt Fließpapier (für vergleichende Versuche Fließpapier von bestimmter Porenweite, Schleicher & Schüll etc.). Hat man in infektiösen Tierorganen durch Erwärmen die Erreger abzutöten, so wird man vorerst das Material so weitgehend wie möglich zerkleinern (s. 117) und dann erst die Emulsion der Wärme aussetzen, auch hier wird ein Filtrieren durch Siebe bestimmter Weite oder auch durch Filterpapier sich nötig machen, wenn man nicht ein ganz ungleichmäßiges Impfmaterial, das in größeren Organpartikelchen noch lebende Erreger in sich tragen kann, erhalten will. Mitunter wird man auch die in flüssigen Kulturen gewachsenen Infektionserreger durch Erwärmen der Kultur selbst abtöten, z. B. Bouillonkulturen. Das hat den Vorteil, daß hierbei die mit jedem Uebertragen in ein anderes Medium verbundenen Schädigungen in Wegfall kommen, doch dürfte das in den meisten Fällen irrelevant sein. Für vergleichende Immunisierungsversuche wird man daran denken müssen, daß man durch Erhitzen der Bouillonkultur ein anders beschaffenes Antigen erhält als durch Erhitzen der auf festen Nährböden gewachsenen und in steriler Bouillon suspendierten Bakterien.

Für das Erwärmen richtet man sich in der Regel ein Wasserbad her. Die Konstanz der Temperatur ist am besten gewährleistet, wenn man einen Quecksilberthermoregulator einschaltet, doch kommt man auch ohne ihn aus, da sich bei Verwendung des gleichen Wasserbades mit gleicher Wassermenge die Regulierung bei Verwendung von

Bunsenbrennern (eventl. Sparflamme) durch die Gashahnstellung ermöglichen läßt.

Es muß gleichmäßige Erwärmung stattfinden. Deshalb darf das die Bakteriensuspension enthaltende Gefäß nicht direkt den Boden des Wasserbades berühren. Zur gleichmäßigen Verteilung der Wärme wird das Wasser mehrfach umgerührt.

Sind größere Quantitäten des Impfstoffes öfter herzustellen, so wird man die Ostwaldschen Wasserbäder verwenden oder die Abtötung in Wärmeschränken mit konstanter Temperatur vornehmen, durch Einsetzen eines Thermometers in ein Gefäß, das von gleicher Größe ist und die gleiche Flüssigkeitsmenge enthält wie das Gefäß mit dem Impfstoff, stellt man fest, wie lange die Anwärmung bis zu der gewünschten Temperatur dauert.

Als Gefäß für die abzutötende Bakteriensuspension benutzt man in der Regel die gewöhnlichen Reagenzgläser. Es ist zu berücksichtigen, daß beim Eingießen, Schütteln usf. Tröpfchen auch an die oberen Partien des Röhrcheninneren verspritzt werden, die eine Erwärmung auf Abtötungstemperatur nicht erfahren. Selbst wenn man nach beendeter Erwärmung die Bakteriensuspension mittels Pipette herausnehmen würde, um zu vermeiden, daß beim Ausgießen die oben haftenden noch lebenden Keime sich dem Impfstoff beimischen, so ist doch diese Methode nicht einwandsfrei, da während der Abtötungszeit zumal nach erfolgtem Schütteln allmählich ein Teil der verspritzten Tropfen zurückfließen kann, die damit nach unten gebrachten Keime werden eine kürzere Erwärmung erfahren wie die übrigen.

Man kann diesen Fehler vermeiden, wenn man unter Beschwerung mit einem Gewicht die Reagenzgläser möglichst tief in das Wasserbad hineinstellt und am Schluß die Partien des Glases, die aus dem Wasser herausragten, nach Abheben des Wattestopfens in der Flamme kräftig abglüht, den Wattestopfen durch einen frischen ersetzt. Natürlich muß man sich dabei hüten, daß nicht etwa vom Wattestopfen bei der Lüftung verspritzte Tropfen nach unten fließen.

Am einwandsfreiesten ist es wohl, die Gefäße, die das Impfmaterial enthalten, in das Wasser so zu versenken, daß alle Teile des Gefäßes gleichzeitig und gleichmäßig in dem Wasserbad die Erwärmung erfahren. Das erreicht man, indem man die Reagenzgläser nach Eingabe des zu erhitzenden Antigens und Luftvertreibung durch Anwärmen der oberhalb der Flüssigkeit befindlichen Glaswand abschmilzt und nach dem Erkalten des Verschlusses unter Gewichtsbelastung versenkt. Wem Abschmelzen und das spätere Oeffnen des Glasrohres unbequem ist, nehme kleine Arzneifläschchen. Wasserdichter Verschluß ist mit den verschiedensten Mitteln zu erreichen, man muß nur die Temperatur des Wasserbades berücksichtigen und vor dem endgültigen Verschluß etwas Luft durch Vorwärmen austreiben.

Ein gut gepreßter und gut eingedrückter Kork erübrigt andere Abschlußmittel, er ist wohl sogar Gummistopfen vorzuziehen. Ist das Korkmaterial nicht viel wert, so wird man noch mit Siegellack dichten können oder mit Paraffin. Für längeres Erwärmen unter Wasser empfiehlt sich Abdichtung durch einen Kitt (Rezepte s. Lee & Mayer, Grundzüge der mikroskopischen Technik, Berlin). Bei größeren Flüssigkeitsquanten kann man sich auch zum Versenken

der mit Patentverschluß versehenen Fläschchen oder Röhrchen bedienen (z. B. von Carl Raupert, Magdeburg).

Höhe der Abtötungstemperatur und Zeitdauer der Einwirkung.

Die Frage, welche Temperaturen man zum Abtöten am besten anwenden soll und wie lange? richtet sich nach den einzelnen Arten der Infektionserreger. Sporenhaltige Kulturen und solche, die nur vegetative Formen enthalten, sind verschieden zu behandeln. Aber auch bei den einzelnen Arten, die keine Sporen bilden, verläuft der Abtötungsvorgang verschieden, auch sollten die einzelnen Stämme nicht nach einem Schema, sondern nach besonderer Vorprüfung benutzt werden. Daß die Art des Aufschwemmungsmediums, die Dichte der Suspension und die Homogenität zu berücksichtigen sind, wurde oben erwähnt.

Angaben über Abtötungstemperaturen und Dauer des Vorgangs sind zu finden bei Gotschlich, dieses Handbuch Bd. III, ferner in Flügges Mikroorganismen Bd. I, S. 435.

Mit Rücksicht auf die Entwertung des Antigens durch Erhitzen, die um so stärker sein muß, je höher die Temperatur ist und je länger sie einwirkt, wird man im allgemeinen dem Verfahren das Wort reden müssen, das in relativ kurzer Zeit bei niedriger Temperatur gerade noch das Abtöten herbeiführt. Die kurzdauernde Anwendung relativ hoher Temperaturen destruiert im allgemeinen das Antigen stärker wie die protrahierte Einwirkung der niederen Abtötungstemperaturen. Andererseits werden aber bei langdauernder Abtötung unnatürliche Verhältnisse durch den um sich greifenden Zerfall geschaffen.

Man wählt daher einen Mittelweg. Und da es in der Praxis bei vielen Antigenen nicht nur darauf ankommt, gerade nur ein Auslöschen der Lebensfähigkeit der Parasiten zu erreichen, sondern da man zur Vermeidung von Tierverlusten auf einen Ausgleich der schwankenden Giftigkeit der Impfstoffe ausgehen muß, so geht man im allgemeinen mit Zeitdauer und Temperatur über das Mindestmaß hinaus. Für wissenschaftliche Untersuchungen sollte man aber doch mit diesem Schematismus brechen und für den jeweiligen Stamm unter Benutzung gleicher Aufschwemmungsflüssigkeiten, gleicher Suspensionsdichten usf. ausprobieren, unter welchen Bedingungen das Antigen durch das Erwärmen die geringste Einbuße erleidet.

Zur allgemeinen Orientierung über einige in der Praxis anwendbare Abtötungstemperaturen diene die Tabelle auf S. 40.

Die Frage, bei welcher Temperatur das Antigen seinen Charakter verliert, ist ebenfalls nicht allgemein zu beantworten: die Fähigkeit, Antikörperbildung im Organismus auszulösen, erlischt nicht mit einem Male beim Erwärmen, die Agglutinin- und Bakteriolysinbildung tritt sogar noch auf, wenn die Antigene sehr hohen Temperaturen ausgesetzt waren, freilich ist dabei eine Schädigung der als Antigen fungierenden Gruppe immer nachzuweisen.

Vergleichende Versuche stellten Friedberger & Moreschi[1] an: $1/2$ Stunde im siedenden Wasser abgetötete Choleravibrionen (suspendiert in Kochsalzlösung) riefen in der Dosis von $1/100$ Oese pro kg Kaninchen Antikörperproduktion

	Temperatur ° C	Dauer der Anwendung	Suspension	Impfung	Autor
Cholera	58	1 Stunde	Agarkultur in NaCl	Mensch	Kolle
Typhus	56	2 Stunden	Agarkultur in NaCl	Mensch	Pfeiffer & Kolle
	56—58	1 Stunde	„ „ „	Versuchstiere	Pfeiffer & Kolle
Pest	58	1 Stunde	Agarkultur in NaCl	Kaninchen	Yersin, Calmette & Borrel
	65	1—2 Std.	Agarkultur in NaCl oder Bouillon	Mensch, Versuchstiere	Deutsche Pestkommission
	65	1 Stunde	Bouillonkultur (6 Wochen alt)	Mensch	Haffkine
	70	1 Stunde	Agarkultur in Bouillon	Ratten, Mäuse, Meerschweinch.	Kolle & Otto
Ruhr	55	1 Stunde	Bouillonkultur	Mensch	Kruse
Hühnercholera	42—43	5 Tage	—	—	Lignières

hervor, und zwar betrug der bakterizide Titer (einmalige Injektion) nach 8 Tagen 0,5—1 mg. Bei dem mit 60°-Bakterien geimpften Tier: 0,1—0,5 mg. Agglutination im ersten Falle 1:10, im zweiten 1:320. Friedberger erhitzte die feuchten Choleravibrionen auch auf Temperaturen über 100°; bei 1 Atmosphäre Ueberdruck im Autoklaven schienen die Lysinogene nach 1/2 Stunde vernichtet, während die Agglutinine noch deutlich in die Erscheinung traten.

Weiteres hierüber in den speziellen Kapiteln.

Ueber die Haltbarkeit dieser Antigene liegen einheitliche Angaben nicht vor: Ein gewisser Beharrungszustand scheint bei den auf 60° erhitzten Impfstoffen nach Pfeiffer-Kolle einzutreten, es ist hier zu verweisen auf die Versuche von Pfeiffer & Marx über die Konservierung durch 0,5 Proz. Phenol (s. S. 157). Friedberger & Moreschi[1] haben dann auch für die 60°-Cholerabakterien bewiesen, daß eine 3-tägige und 11-tägige „Autolyse" der 60°-Vibrionen bei 37° keine oder nur eine geringfügige Verminderung der Fähigkeit, die Bildung bakterizider Antikörper anzuregen, nach sich zog, hingegen wurden die agglutinogenen Gruppen durch diese „Autolyse" hochgradig geschädigt. Wurden die Vibrionen nicht bei 60°, sondern bei 100° abgetötet, so trat mit der Aufbewahrung bei 37° eine fortschreitende Abschwächung der Lysinogene ein.

Nach einigen Autoren nimmt bei längerer Aufbewahrung der durch erhöhte Temperatur abgetöteten Bakterienimpfstoffe ihre Giftigkeit zu, wohl eine Folge der schließlichen Auflösung oder Auslaugung der Zelleiber.

Vgl. im übrigen Konservierung der Antigene S. 157.

Erhitzung nach Trocknung des Antigens.

Die obigen Angaben beziehen sich alle auf die Erhitzung von Infektionsmaterialien flüssigen Charakters.

Löffler[2, 3] hat mit Hinblick auf die hohe physiologische Widerstandsfähigkeit der im trockenen Zustande befindlichen Fermente gegenüber dem Erhitzen Untersuchungen vorgenommen, ob getrocknete und dann bis zur Abtötungstemperatur erhitzte Bakterien noch Antikörper zu erzeugen vermögen. Das gelang ihm.

Die Bakterien wurden von Agarkulturen gewonnen, auf Glasplatten ausgestrichen, bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und danach, sofern es sich um nicht sporenbildende Bakterien handelte, 2—3 Stunden auf 120°, sporenbildende 1/2 Stunde auf 150° in einem genau verschließbaren Trockenschranke erhitzt.

Die Bakterien lieferten je nach der Art 18—30 Proz. Trockensubstanz, die zu einem feinen Pulver verrieben und im Bedarfsfalle nach Wägung in Kochsalzlösung verteilt wurde. Die spezifische Giftigkeit war durch dies Verfahren nicht gestört, ihre Einverleibung auf Versuchstiere führt zur Bildung von Agglutininen und Bakteriolysinen (Deutsches Reichspatent, Klasse 30h, Nr. 153382 vom 24. IV. 1903. Farbwerke Höchst a. M.).

Beispiele der aktiven Immunisierung mit durch Hitze abgetöteten Infektionserregern.

a) Die ältesten Versuche betreffen den Milzbrand. Die Methoden haben heute nur historischen Wert, da nach allen vorliegenden Beobachtungen mit toten Milzbrandbacillen im günstigsten Falle eine geringe Steigerung der Widerstandsfähigkeit, aber keine spezifische Immunität zu erzielen ist. Uebersicht über die Methoden siehe SOBERNHEIM, Bd. III. Auch zur Präzipitingewinnung sind die abgetöteten Milzbrandbacillen (und Extrakte) ungeeignet.

b) Tuberkulose. DAREMBERG versuchte Kaninchen gegen Hühnertuberkulose durch subkutane Verabreichung sterilisierter Kulturen zu schützen. HÉRICOURT & RICHET erhitzten virulente Tuberkelbacillen mehrmals auf 80° und behandelten Kaninchen.

Nach den bisherigen Erfahrungen liefert die Immunisierung mit durch Hitze abgetöteten Tuberkelbacillen sehr ungenügende Ergebnisse.

Es müßte aber noch näher untersucht werden, ob nicht die bei höheren Temperaturen auftretende Destruktion der antigenetischen Stoffe des Tuberkelbacillenleibes durch geeignete Methoden der Vorbehandlung der Bakterienzelle verhütet werden kann.

Wie das trockene Eiweiß die Erhitzung verträgt (z. B. im Verfahren LÖFFLERS), so scheint auch durch die Behandlung mit Glyzerin in ähnlicher Weise wie durch Trocknen die immunisatorische Fähigkeit der Tuberkelbacillen vor der Schädigung des Erwärmens geschützt zu werden: MARXER[2, 3] konnte mit den nach LEVY durch Glyzerin abgetöteten Tuberkelbacillen Meerschweinchen und Ziegen auch immunisieren, wenn der Glyzerinimpfstoff 1 Stunde auf 70—72° erwärmt war, ebenso wirkte Natriumoleat; die erhitzten Oelseifetuberkelbacillen immunisierten sogar besser wie die nicht erhitzten, nur geschüttelten. MARXER sieht das Wesentliche der Erhitzung in dem Schmelzen des Wachses und der dadurch bedingten Trennung der Häufchen.

Da, wie z. B. die Versuche von SATA zeigen, tote Tuberkelbacillen, auch die durch Hitze abgetöteten, für die Erzeugung von Tuberkulinüberempfindlichkeit geeignet sind, so werden sie vielleicht doch auch für die Erzeugung der nahe verwandten Immunität, wenigstens in gewissen Stadien der Immunisierung, Verwendung finden können.

Am genauesten ist die Methode der Immunisierung mit abgetöteten Krankheitserregern studiert bei Cholera, Typhus, Pest.

c) Cholera. 1. BRIEGER, KITASATO, WASSERMANN erhitzten 3-tägige Thymusbouillonkulturen, später BRIEGER & WASSERMANN eintägige Kulturen in gewöhnlicher Bouillon 15 Minuten lang auf 65° und immunisierten Meerschweinchen. Dieselbe Temperatur und Erhitzungsdauer wandte FEDOROFF für 1 Woche alte Thymusbouillonkulturen an; den Bodensatz versetzte er mit Glyzerin 1:9 und erhielt danach einen 2 Monate lang wirksamen Impfstoff (Meerschweinchen, subkutan).

2. Bouillonkulturen, 8 Tage alt, 2 Stunden auf 70° erhitzt, verwandte G. KLEMPERER bei Meerschweinchen; 3 Tage alte, in gleicher Weise abgetötete, auch beim Menschen.

3. Seitdem R. PFEIFFER gezeigt hat, daß das Wesentliche für die Erzeugung von Choleraantikörpern die Einverleibung der Vibrionen-

leiber ist, sind vor allem Agarkulturen für die Immunisierung verwendet worden. Da es ferner bei der Wertbestimmung von Cholerasereu durch den PFEIFFERschen Versuch sich nötig machte, eine genaue Dosierung innezuhalten, so war auch für diesen Zweck die Agarkultur die geeignetere.

Gerade die Cholera ist das Gebiet für die Anwendung abgetöteter Kulturen geworden, seitdem vor allem durch KOLLES exakte Versuche erwiesen wurde, daß der Immunisierungserfolg (gemessen an den Agglutininen und Bakteriolysinen) bei Injektion lebender oder toter Vibrionen der gleiche ist.

KOLLE[6, 7] hat dann, gestützt auf die fundamentalen Versuche von PFEIFFER, WASSERMANN, KOLLE & ISSAEFF über das Wesen der Choleraimmunität und an der Hand exakter Prüfungsmethoden die Choleraschutzimpfung bei Menschen wissenschaftlich begründet.

Methode der Schutzimpfung des Menschen gegen Cholera mit abgetöteten Choleravibrionen.

1. Aelteste Versuche KOLLES (1896): 24-stündige Cholerakulturen wurden 2—3 Minuten lang gekocht. Einmalige Injektion von $^1/_{10}$—$^1/_5$ Agarkultur subkutan beim Menschen bewirkte Ansteigen des bakteriziden Serumtiters auf 0,003 ccm. Auftreten der Antikörper nicht vor dem 5. Tag.

2. Spätere Versuche am Menschen (1897): 24 Stunden alte Choleraagarkultur wird so abgeschwemmt, daß 1 ccm ca. 2 mg Kulturmasse enthält. Erwärmen der Aufschwemmung 1 Stunde auf 56°. Injektionsdosis $^1/_{10}$ Kultur. Oertliche Erscheinungen: mäßige Infiltration mit sehr großer Schmerzhaftigkeit, Druckempfindlichkeit der regionären Lymphdrüsen. Temperatursteigerung (bis 39°), Frost, Mattigkeitsgefühl, Appetitmangel. Nach 2—3 Tagen ist die Reaktion abgelaufen. Effekt der einmaligen Behandlung: starke Erhöhung des bakteriziden Titers der Impflinge vom 6. Tage ab.

Beispiel K: Titer vor Immunisierung 0,75; nach der Immunisierung 6 Tage 0,006, 16 Tage 0,003, 30 Tage 0,001, nach 1 Jahr 0,03. Oder Beispiel E: Titer vor Immunisierung 0,3; 10 Tage nach der Immunisierung 0,005, 23 Tage nach: 0,003, 320 Tage: 0,05. —

3. Derzeitige Methode KOLLES.

Erste Injektion: subkutan 2 mg Agarkulturmasse, aufgeschwemmt in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung, bei 58° 1 Stunde lang abgetötet. (1 Agarröhrchen (= 20 mg) wird abgeschwemmt mit 10 ccm Kochsalzlösung, also 1 ccm = 2 mg). Der Impfstoff wird mit 0,5 Proz. Phenol versetzt. Zweite Injektion: Doppelte Dosis: 4 mg. Erscheinungen nach der Impfung: an der Injektionsstelle ein mehr oder weniger stark empfindliches Oedem, Fieber, Kopfschmerzen. Nach 1—2 Tagen ist die Reaktion abgelaufen.

Effekt: Anstieg des bakteriziden Titers von 0,2 (im Durchschnitt) auf 0,003; höchster Stand des Titers zwischen 10. und 24. Tag. Nach Ablauf eines Jahres sinkt der Titer stärker.

Methode der aktiven Immunisierung von Kaninchen zur Gewinnung von bakteriolytischen Choleraantikörpern.

Nach PFEIFFER-MARX[2]: Kaninchen von 2 kg Gewicht erhalten den Kulturrasen von 3 Tage alten Choleraagarkulturen, die mit 5 ccm Bouillon abgespült und durch einstündiges Erwärmen in einem auf 70° eingestellten Trockenschrank sterilisiert wurden. Injektion subkutan an zwei verschiedenen Stellen.

Die Virulenz des Stammes war $^1/_{10}$ Oese (= $^1/_5$ mg) für Meerschweinchen (200—250 g), intraperitoneal. Das Resultat dieser Impfung an 15 Kaninchen, die (zugleich für andere Zwecke) entblutet wurden, war folgendes:

Bakteriolytische Antikörper im Kaninchen nach subkutaner Injektion abgetöteter Choleravibrionen nach R. PFEIFFER-MARX.

Kaninchen Nr.	Serumtiter in mg Wieviel Tage nach Cholerainjektion						
	1 Tag	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage	8 Tage	52 Tage
1	200—300 mg						
2	150—200 „						
3	< 300 „						
4		< 300 mg					
5		300 „					
6			20 mg				
7			50 „				
8			30 „				
9				5 mg			
10				1 „			
11					$^1/_4$ mg		
12					3 „		
13						$^1/_{12}$ mg	
14						$^1/_{20}$ „	
15							2 mg

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß schon am 3. Tage nach der subkutanen Einverleibung abgetöteter Choleravibrionen bei Kaninchen die Blutveränderung einsetzt.

Ueber einen Versuch, die 60°-Bakterien durch Gefrierenlassen und Wiederauftauen weiter zu erschließen, berichten FRIEDBERGER & MORESCHI[1], sie brachten die bei 60° abgetöteten Choleravibrionen an zwei aufeinanderfolgenden Tagen 6mal hintereinander in einer Kältemischung zum Gefrieren und tauten bei Zimmertemperatur wieder auf. Dies Antigen wirkte aber nicht besser als die nur erhitzten 60°-Bakterien (Injektionsdosis pro kg Kaninchen $^1/_{100}$ Oese).

d) Typhus. 1. CHANTEMESSE & WIDAL impften Mäuse intraperitoneal mit 0,5 ccm 3 Tage alter und auf 120° 10 Minuten lang erhitzter Typhusbacillen, die gleichen Mäuse erhielten an den 5 folgenden Tagen ebenfalls je 0,3—0,5 ccm von erhitzten, aber 5, 6, 7, 8 und 9 Tage lang gezüchteten Bacillen. 4 Mäuse starben, von den 8 überlebenden vertrugen 10 Tage nach der ersten Injektion 6 die tödlichen Dosen. Immunität war, allerdings ebenfalls nicht regelmäßig, auch zu beobachten, wenn die Autoren nur die 3 Tage alten und sterilisierten Kulturen einspritzten.

2. L. BRIEGER, KITASATO und WASSERMANN erhitzten 3-tägige Kulturen von Typhusbacillen (Thymusbouillon) auf 60° 15 Minuten lang, mit 0,5 ccm dieses Impfstoffes konnten Mäuse (intraperitoneal) gegen die intraperitoneal verabreichten dreifach tödlichen Dosen frischer Kultur, ferner Meerschweinchen mit 3 ccm (intraperitoneal) gegen die doppelte tödliche Dosis (intraperitoneal) geschützt werden. Fischsperma- und Lymphdrüsen-Typhusbouillon in der gleichen Weise behandelt, wirkte gleich günstig.

3. CHANTEMESSE & WIDAL dehnten dann ihre früheren Versuche weiter auch auf Meerschweinchen und Kaninchen aus, die mit 2 Wochen alten auf 100° erhitzten Bouillonkulturen subkutan vorbehandelt wurden.

4. BEUMER & PEIPER behandelten Hammel in 3—14-tägigen Intervallen subkutan mit Typhusbouillonkulturen, die bei 55—60° 1 Stunde gehalten waren, Dosen steigend von 1—100 ccm.

5. An den weiteren Ausbau der Immunisierungsverfahren gegen Typhus mit abgetöteten Bacillen, vor allem auch an ihre Anwendung

auf den Menschen konnte erst herangetreten werden, als in dem Serum von Menschen, die den Typhus überstanden hatten, sowie im Blutserum immunisierter Tiere Veränderungen nachweisbar waren, deren Grad sich feststellen ließ. Die Bestimmung des bakteriziden Titers des Serums nach dem PFEIFFERschen Verfahren gewährte auch hier ebensowie bei Cholera die Möglichkeit, wenigstens die eine Art der entstehenden Antikörper zu fassen und zu messen.

PFEIFFER & KOLLE behandelten Ziegen subkutan mit 20 Stunden alten Typhuskulturen, die in Kochsalzlösung suspendiert bei 65° abgetötet waren. Sie beobachteten damit einen starken Anstieg der spezifisch-bakteriziden Substanzen des Serums und gingen nun daran, das zur Choleraschutzimpfung des Menschen geübte Verfahren in ähnlicher Weise gegen Typhus auszuarbeiten.

Die Herstellung des Impfstoffs war die gleiche wie bei Cholera. Die Kultur besaß $^1/_{10}$-Oesenvirulenz für 300 g Meerschweinchen (intraperit.). Abtötung der Kulturaufschwemmung (1 Oese : 1 ccm sterile Bouillon) erfolgte bei 56° im Brutschrank „mehrere Stunden". Einmalige subkutane Verimpfung von 2 mg = $^1/_{10}$ Agarkultur in 1 ccm Bouillon bei Menschen (Rückenhaut) hatte zur Folge, daß der Serumtiter, der vor der Injektion $>$ 0,5, 6 Tage nach der Injektion 0,2 und 11 Tage nachher 0,075 betrug, in einem anderen Falle von 0,5 vor der Injektion auf 0,01 (11 Tage nach der Injektion) sich erhöhte.

Erscheinungen: nach einigen Stunden Schmerzen an der geröteten und geschwollenen Injektionsstelle, Fieber bis 39°, erhebliches Unwohlsein. Nach dem 1. Tage gehen die Erscheinungen zurück und sind am 3. Tage verschwunden.

Nach späteren Angaben wird die Bakteriensuspension (eine 18 Stunden alte Agarkultur: 10 ccm Bouillon) 2 Stunden auf 56° erwärmt. Nach den Versuchen von PFEIFFER & MARX kann der Impfstoff durch Zusatz von 0,5 Proz. Phenol auf die Dauer von mindestens 4—10 Wochen konserviert werden, soweit es sich um die Antigene für die Erzeugung bakterizider Stoffe handelt (daß das Agglutinogen eine solche längere Konservierung — $2^1/_2$ Monate — nicht verträgt, geht aus den Versuchen von PFEIFFER & MARX hervor: die Seren der subkutan mit dem konservierten Impfstoff behandelten 3 Menschen agglutinierten im Höchstfalle 1:10, ein Serum, das im bakteriolytischen Versuch am intensivsten wirkte, agglutinierte überhaupt nicht).

Ueber Auswahl des Kulturstammes s. S. 150.

Nach den Angaben von MARX empfiehlt es sich, das zur Immunisierung des Menschen zu benutzende Typhusantigen durch 2—3 Stunden langes Erwärmen auf 60° herzustellen, auch dann ist noch Sterilitätsprüfung nötig.

Ausführlich ist die Herstellung des PFEIFFER-KOLLEschen Impfstoffs von HETSCH & KUTSCHER geschildert worden.

Nach diesen Angaben werden 24 Stunden alte bei 37° bewachsene Agarröhrchen eines Stammes verwendet, der in der Dosis $^1/_8$ Oese ein Meerschweinchen von 250 g bei intraperitonealer Einverleibung tötet. Der Stamm besitzt die Fähigkeit, die Ambozeptoren des Typhusserums in reichlicher Menge zu binden — Zum Ausgleich der Schwankungen der Bakterienmengen in den einzelnen Röhrchen werden Röhrchen der gleichen Weite und Agaroberfläche ausgewählt, die Impfung geschieht mit einer großen Oese Bouillonaufschwemmung, so daß die ganze Oberfläche Aussaatmaterial erhält. Die Kulturmenge von 10 Röhrchen wird mit 4,5 ccm steriler physiologischer NaCl-Lösung mittels

langer Platinöse abgeschwemmt, durch ein steriles Gazefilter in Erlenmeyerkölbchen filtriert, das nun auf $1^1/_2$—2 Stunden in einen auf 60° eingestellten Schrank zur Abtötung der Bacillen gegeben wird. Danach Sterilitätskontrollen (je 2 große Oesen in Bouillon, desgleichen auf Agarröhrchen), schließlich Zusatz von 5 ccm einer 3-proz. Phenollösung zu den 45 ccm Inhalt des Kölbchens. Nach Abwarten der Sterilitätsprüfung Auffüllen des Impfstoffes auf 15 bis 20 ccm haltende sterile braune Fläschchen, die mit glatten, ausgekochten und 24 Stunden in 5-proz. Phenollösung aufbewahrten Gummistopfen verschlossen werden. Nach Verschluß werden die Fläschchen nochmals $^1/_2$ Stunde bei 60° gehalten. 0,5 ccm des Impfstoffes = 2 Normalösen Typhusagarkultur.

Der nicht mit Phenol versetzte erhitzte Agarimpfstoff tötet Meerschweinchen (250 g) intraperitoneal in der Dosis von 3 ccm.

Die Technik der Impfung ist von Hetsch & Kutscher ebenfalls geschildert, sie wählten als Injektionsstelle vor allem die vordere Seite der linken Brust. (Mitte zwischen Schlüsselbein und Brustwarze.) Rückenimpfungen empfehlen sich nicht (Schmerzen beim Liegen). Auch Unterarmimpfungen sind nicht zweckmäßig, weil es in dem straffen Unterhautbindegewebe häufiger zu sehr schmerzhaften Exsudaten kommt. Ueber klinische Beobachtungen bei den Schutzimpfungen s. Flemming, ferner Musehold & Steudel, Morgenroth, Erhardt, Eggert & Kuhn in „Beiträge zur Schutzimpfung gegen Typhus". Musehold & Steudel beobachteten als höchste Impftemperatur 40,9.

Nach den Beobachtungen pflegt 10 Tage nach der einmaligen Verabreichung von 2 mg der bakterizide Titer durchschnittlich 0,01 bis 0,005, der Agglutinationstiter 0,02—0,01 zu betragen. Zur Erzielung einer höheren und längerdauernden Immunität soll 8—10 Tage nach der ersten eine zweite Impfung mit der doppelten und nach weiteren 8 Tagen eine dritte Impfung mit der 3—4-fachen Dosis folgen. Bei diesen erneuten Injektionen sind die Erscheinungen wesentlich geringer. Bleibt eine allgemeine Reaktion nach der 2. Impfdosis aus, so empfiehlt es sich, eine dritte Einspritzung mit 10 mg Agarkultur = 5 Oesen vorzunehmen. Siehe hierzu Abe, S. 154.

Kolle rät von der Verwendung kleiner Dosen des Impfstoffs (weniger als 2 mg Kultur) ab, zur Erzielung einer ausreichenden auch länger anhaltenden Immunität scheint das Auftreten gut ausgesprochener allgemeiner und lokaler Reaktionen Erfordernis zu sein. Später sind aber zur Vermeidung der heftigen Erscheinungen folgende Impfdosen gewählt worden:

1.	Injektion	0,3 ccm	Impfstoff	= $^3/_5$ Oese,
2.	„	0,8 „	„	= $1^3/_5$ „
3.	„	1,0 „	„	= 2 Oesen.

Die von Hetsch & Kutscher ermittelten Werte für die Bakteriolysine und Agglutinine des Serums der Schutzgeimpften decken sich i. A. mit den oben wiedergegebenen. Hervorgehoben sei, daß die nochmaligen Injektionen, wie zu erwarten war, eine bedeutende Steigerung der Serumwerte zur Folge hatten.

Resultate der Impfung s. Bd. III.

Eine Modifikation dieser Typhusschutzimpfung nach Pfeiffer-Kolle haben R. Bassenge und W. Rimpau vorgeschlagen. Von einem lange fortgezüchteten Typhusstamm, der sehr geringe Virulenz, aber leichte Agglutinationsfähigkeit besaß, wurden 18 Stunden alte Agarkulturen hergestellt, mit 0,87 Proz. NaCl-Lösung abgeschwemmt und bei 58—60° im Schüttelapparat binnen 1 Stunde abgetötet. Erste Impfdosis $^1/_{30}$ Oese, nach 10—12 Tagen $^1/_{15}$, nach weiteren

10—12 Tagen $^1/_6$ oder $^1/_5$ Oese. Der Impfstoff hält sich mit und ohne Phenolzusatz im Eisschrank wochenlang.

Der Vorteil dieser kleineren Impfdosen soll in der Verhütung stärkerer Allgemeinerscheinungen liegen, was von HETSCH und KUTSCHER (s. oben) bestätigt wird, hingegen fanden diese Autoren keinen Unterschied der kleinen Dosen gegenüber den großen in bezug auf die Intensität der lokalen Erscheinungen. Die Prüfung des Agglutinations- und bakteriziden Titers durch BASSENGE & RIMPAU ergab, daß die durch die künstliche Impfung erhaltenen Werte den bei Typhusrekonvaleszenten zu findenden gleichkommen oder sie übertreffen.

Das Verfahren ist von KOLLE zum Vergleich mit anderen zu Schutzimpfungen empfohlenen herangezogen worden, von sechs nach dieser Methode geimpften Personen hatte keine nach der dreimaligen Injektion einen höheren bakteriziden Titer als 1:50.

6. Schutzimpfung nach WRIGHT.

Der Unterschied dieses Verfahrens gegenüber dem PFEIFFER-KOLLEschen liegt in erster Linie in der Verwendung von Typhusbouillonkulturen.

Früher nahm WRIGHT 10—21 Tage, jetzt 1—2 Tage alte Typhusbouillon (37°).

Die Methode der Darstellung des Impfstoffs ist eingehend beschrieben in der Schrift: „Kurze Abhandlung über Antityphusinokulation" von A. E. WRIGHT, Jena, G. Fischer, 1906. Ausführlich gibt sie auch FRIEDBERGER[4] wieder.

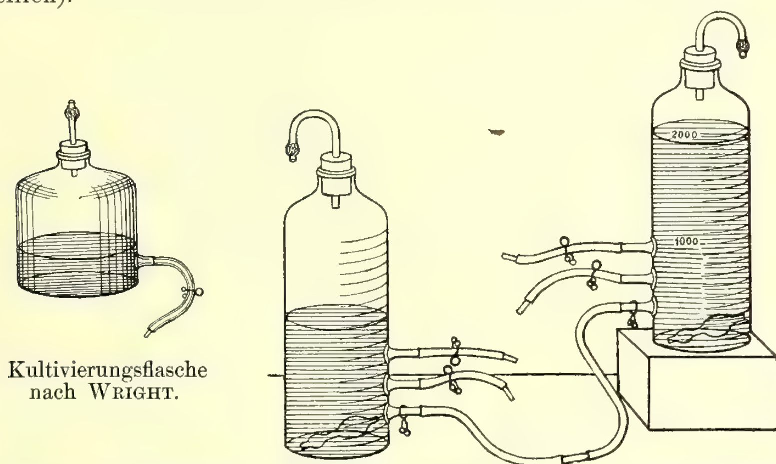
Die Züchtung der Typhusbacillen geschieht in dünnen Schichten neutraler 1-proz. Peptonbouillon innerhalb von besonderen Flaschen: Diese sind mit einem seitlichen unteren Ansatz versehen, der in einen Kautschukschlauch ausläuft. Verschluß durch Klemme und Glasstab. Zur Impfung der Flaschen wird das Kautschukrohr an einer Stelle mit glühendem Glasstäbchen berührt und an dieser sterilen Stelle die Kanüle der mit Typhussuspension gefüllten Spritze eingestochen. WRIGHT wählte diese Art Kulturflaschen, um aus ihnen leicht Proben zur Prüfung auf Reinheit entnehmen zu können und die Möglichkeit zu haben, den Inhalt in größere Milchflaschen (s. Fig. 2) ohne Gefahr der Verunreinigung zu übertragen. Diese Vermischung des Inhalts einer ganzen Serie von Kulturflaschen in einem größeren Gefäß vereinfacht die Standardisierung. Die Ueberführung des Inhaltes der Kulturflaschen in die abgebildeten Mischgefäße geschieht in der Weise, daß die Kautschukschlauchenden an der Kulturflasche und an dem untersten Ansatz der Mischflasche mittels Durchziehens durch die Flamme sterilisiert und die beiden Verschlußglasstäbchen aseptisch entfernt werden. Nachdem durch eine sterile Glasröhre die Verbindung zwischen den Flaschen hergestellt ist, werden die Klemmen gelüftet und die Flüssigkeit übergeleitet. In gleicher Weise werden die übrigen Kultivierungsflaschen entleert, schließlich wird wieder mit Glasstab verschlossen. Das Mischgefäß kommt dann in ein tiefes Wasserbad, so daß die Oberfläche des Wasserbades noch 5 cm höher steht als die Oberfläche der Kultur im Mischgefäß. Jedes Mischgefäß enthält im Innern ein Thermometer, das im wesentlichen aus einem spindelförmigen, mit Paraffin vom Schmelzpunkt 60° gefüllten Glasgefäß besteht, ist die Temperatur des Schmelzpunktes erreicht, so sinkt das Thermometer zu Boden (nähere Beschreibung bei WRIGHT). Von diesem Moment ab läßt WRIGHT nach Abdrehen der Heizflamme des Wasserbades die Mischgefäße noch 10—15 Minuten in dem heißen Wasser.

Nachdem die erhitzten Bouillonmengen gemischt sind, erfolgt die Sterilitätsprüfung, die Bestimmung der Vaccinstärke, die Standardisierung und die Zugabe von $^1/_{10}$ des Vaccinvolumens von 5-proz. Lysol- oder Karbollösung zur Konservierung.

Für die Standardisierung des Vaccins hat WRIGHT verschiedene Methoden geprüft, u. a. das doppelte Standardisierungsverfahren: Prüfung der Toxizität des Vaccins an Meerschweinchen und Kontrolle der Opazität des Vaccins nach dem LEISHMANschen Verfahren (Beschreibung bei FRIEDBERGER). Bei der Toxizitäts-

bestimmung wurden Meerschweinchen (250—300 g) subkutan mit 0,5—1,5 ccm Vaccin geimpft, die tödliche Dosis für 100 g Meerschweinchen war die Impfdosis für den Menschen. Indessen erwies sich die Resistenz der Meerschweinchen gegenüber dem Vaccin als außerordentlich schwankend. Die Prüfung der Opazität konnte ebenfalls auf Genauigkeit keinen Anspruch machen, da sie einer Beeinflussung durch autolytische Prozesse während der Züchtung unterlag.

Wright hat deshalb als Standardisierungsverfahren das Zählen der in der Volumeneinheit enthaltenen Typhusbacillen gewählt. Es wird dies dadurch erleichtert, daß er von vernherein nur solche Typhusstämme zur Herstellung des Vaccins benutzt, die eine gleichmäßige Wachstumsintensität unter optimalen Bedingungen aufweisen (nach 1-tägigem Wachstum pro 1 ccm 1000—2000 oder mehr Millionen Bacillen).



Kultivierungsflasche nach Wright.

Fig. 2. Mischgefäße nach Wright. Paraffinthermometer auf dem Boden der Behälter sichtbar.

Wrights Zählmethode. In eine Wrightsche, mit Marke versehene Kapillarpipette werden mittels Gummisaugers 1 Volumen Blut (aus der Fingerkuppe), danach unter Einschaltung einer Luftblase 1 Volumen Vaccin und 3 Volumina physiologischer Kochsalzlösung eingebracht. Die letztere kann auch bei weniger dichten Vaccins durch das Vaccin selbst ersetzt werden. Der Pipetteninhalt wird auf einen Objektträger ausgeblasen und durch mehrmaliges Aufsaugen und Ausblasen gemischt. Von der Mischung wird 1 Tröpfchen auf einen mit feinstem Schmirgelpapier abgeriebenen (oder durch Kochen in starkem Aetznatron vorbereiteten) Objektträger gebracht und ausgestrichen. Fixation und Färbung vgl. opsonische Technik. Zur Zählung der im Gesichtsfeld befindlichen roten Blutkörperchen und Bakterien ist ein stärkeres Okular zu verwenden. Man ermittelt den Durchschnittswert mehrerer Gesichtsfelder. Als bekannt sieht Wright den Blutkörperchengehalt des normalen Blutes an (5 000 000 000 pro 1 ccm).

$$\frac{\text{Zahl der Blutkörperchen im Gesichtsfeld}}{\text{Zahl der Bakterien im Gesichtsfeld}} = \frac{\text{Zahl der Blutkörp. in der Volumeneinheit}}{\text{Zahl der Bacillen in der Volumeneinheit.}}$$

Beispiel: Gezählt sind 36 rote Blutkörperchen und 20 Typhusbacillen. Folglich

$$\frac{36}{20} = \frac{5\,000\,000\,000}{x}$$

x (Zahl der Bacillen des Vaccins in 1 ccm) = 2 800 000 000.

Diese Methode kann unter Umständen recht ungenaue Werte ergeben, wie LEISHMANN, HARRISON, SMALMANN und TULLOCH nachgewiesen haben (Schwierigkeit der gleichmäßigen Verteilung in dem Ausstrich, Häufchenbildung der Bouillonbacillen, Agglutination durch das Serum, bakteriolytische Einflüsse u. dgl.). LEISHMAN hat daher dies Zählverfahren WRIGHTS mit der Plattenzählmethode unter Verwendung einer homogenen Aufschwemmung von Typhusbacillen in physiologischer Kochsalzlösung verglichen und als hierbei gleiche Werte erhalten wurden, abgemessene Mengen getrocknet und gewogen. Da die Wägungsresultate in einem bestimmten Verhältnis zu den Zählungen stehen, so lassen sie sich auch zur Vaccintitrierung u. U. verwenden.

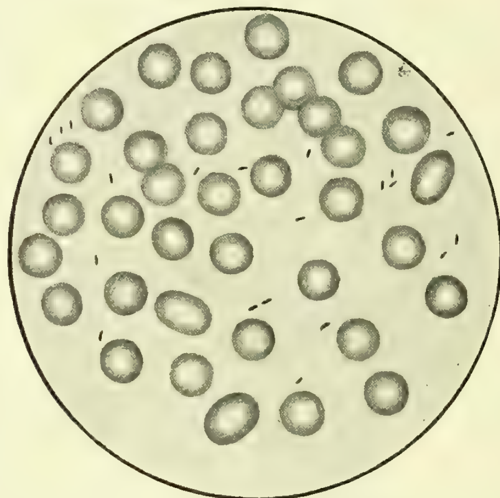


Fig. 3. Ausstrich von 1 Volumen normalen Blutes, 1 Vol. Typhusvaccin, 3 Vol. physiolog. NaCl-Lösung.

Dosierung des Impfstoffs.

Beim Erwachsenen beträgt die 1. Impfdosis 750—1000 Millionen Typhusbacillen, die zweite (nach 11 Tagen) die doppelte Menge.

Injektionsstelle: Zur Vermeidung der Schmerzen durch stärkere Hautspannung sind Stellen zu wählen, an denen die Haut locker aufsitzt. WRIGHT bevorzugt die Rückenpartie nahe der Schulter und Lendengegend.

Zum Abfüllen des Vaccins dienen kleine Flaschen, die, mit Watte verschlossen, trocken sterilisiert werden. Die Wattestopfen werden nach dem Abkühlen ersetzt durch starke Gummikappen, die in einer gesättigten Sublimatlösung gelegen hatten und genau auf den Fläschchenhals passen müssen. Dieser Gummikappenverschluß hat vor dem durch Stopfen den Vorteil, daß durch Einstich mit spitzer Kanüle Flüssigkeitsquanten entnommen oder zugesetzt werden können.

Die Methode des Abfüllens ist beschrieben bei WRIGHT. Das Einfüllen geschieht aus den großen Mischgefäßen mittels Handgebläses. Die Gummikappen der kleinen Fläschchen werden in eine starke Lösung von Karbolsäure oder Lysol getaucht und mit je 2 Hohlnadeln, die in heißem Oel bei 140° sterilisiert worden sind, durchbohrt. Durch die eine Nadel, die aseptisch mit dem Auslauf des Mischgefäßes verbunden ist, läßt man das Vaccin einströmen, durch die andere entweicht die Luft. Die beiden Einstichlöcher in den Gummikappen werden durch Gummilösung nach Abwaschen der Gummikappen mit absolutem Alkohol und Entfernen etwaigen Oels durch Aether verschlossen. Ist die Gummilösung erstarrt, so wird die Kappe mit Paraffin,

das auf 160° erhitzt wurde, überzogen. Beim Eintauchen der Flaschen in das Paraffin soll dieses auch in den Raum zwischen unterstem Rand der Gummikappe und Flaschenhals eindringen. Zur Entnahme von Impfstoff aus den Flaschen wird die Gummikappe in heißem Oel oder in einem heißen Antiseptikum sterilisiert und mit steriler Kanüle eingestochen. Nach dem ersten Einstich wird die Nadel wieder herausgezogen (um Luft einzulassen) und nach nochmaliger Einführung die Spritze gefüllt.

Klinische Erfahrungen nach Einführung des Wrightschen Impfstoffes.

1) Lokale Erscheinungen. Nach 2—3 Stunden Hautrötung, seröse Exsudation an der Impfstelle, unbedeutende Lymphangitis in der Richtung der Axillar- oder Leistendrüsen. Bei sehr stark toxischem Vaccin wurden in einem Falle erysipelartige Erscheinungen (ohne nachfolgende Eiterung) beobachtet. Wright verordnet gegen die serösen Exsudationen 2—4 g Calciumchlorid oder Calciumlaktat, Vermeidung von Alkohol; zur Linderung der Schmerzen warme Umschläge, Einreiben mit Salbe (Acid. carbol. 1,0, Extr. Ergotini liquid. 4,0, Zinc. oxyd. 3,0, Lanolin 20,0). An der Impfstelle bleibt auch noch nach Wochen ein hartes Knötchen zurück.

2) Allgemeinerscheinungen. Sie setzen 2—3 Stunden nach der Impfung ein: Kopfschmerzen, Unwohlsein. Nach 5—6 Stunden sind die Erscheinungen gewichen. Bei der früheren Anwendung großer Dosen wurden Schwächeanfälle und Schüttelfröste beobachtet. Nach Muskelanstrengungen und Hungern waren die Allgemeinerscheinungen heftiger.

Harrisons Modifikation des Wrightschen Impfstoffes besteht darin, daß er einen avirulenten Stamm 1—2 Tage in Bouillon züchtet und eine Stunde lang bei 53° im Wasserbad abtötet. Zusatz von 0,25 Proz. Lysol. Die Impfdosis beträgt 500 Millionen (= 0,5 ccm) Bakterien für die erste und 1000 Millionen (= 1 ccm) Bakterien für die zweite Impfung (9—10 Tage nach der ersten). Harrison sieht das Wesentliche der Wirksamkeit dieses Vaccins in der niedrigen Erhitzungstemperatur, nach seinen Versuchen schädigt die Temperatur von 65° und darüber das Antigen.

Nach späteren Untersuchungen von Leishman, Harrison, Grattan & Archibald, die die Versuche Harrisons bestätigen, genügt schon die 24-stündige Einwirkung des Lysolzusatzes von 0,25 Proz. zur Abtötung der Bacillen, es tritt aber durch einstündige Erwärmung auf 53° keine wesentliche Abschwächung ein. Stellt man den Impfstoff durch Suspension in NaCl-Lösung her, so verursacht seine Injektion mildere Lokal- und Allgemeinerscheinungen. Der Immunisierungseffekt war in bezug auf die Bildung bakteriotroper Stoffe der nämliche, wie nach der älteren Methode, nur die Agglutinine traten in vermindertem Maße auf.

Der Wrightsche Impfstoff hielt sich bei mittlerer Zimmertemperatur 3 Monate. Russel benutzt als Konservierungsmittel des erwärmten Impfstoffes Formalin.

Die der Wrightschen Schutzimpfung folgende Entstehung von Antikörpern wurde von Leishman am Menschen geprüft. Das bakterizide Vermögen (Plattenmethode) erfuhr eine Steigerung auf das 5-fache, die Bakteriolyse (in vitro, Granulafärbung) auf das 5—10-fache. Die Agglutinine erreichten in einigen Fällen Werte von 2000—4000. Die Untersuchung auf Opsonine verlief negativ, die Stimuline erfuhren eine Steigerung.

Resultate der Wrightschen Schutzimpfung s. Bd. III.

7. Chantemesse empfiehlt die amerikanische Methode zur Herstellung von Typhusimpfstoff: Abtöten der Bacillen bei 56° im Wasserbad unter Schütteln, kein Zusatz von Antisepticis.

e) Die durch Hitze abgetöteten Ruhrbacillen haben eine verhältnismäßig geringe Bedeutung für die aktive Immunisierung gewonnen, und zwar deshalb, weil dieser Impfstoff gegenüber den verschiedensten Organismen, auch gegenüber dem Menschen, eine hohe Giftigkeit besitzt. Doerr beobachtete, daß die 1 Stunde bei 65° abgetöteten Bacillen gegenüber Kaninchen fast die gleiche Toxizität entfalten wie die lebenden, s. auch Selter, S. 35. Wählt man zur Abtötung höhere Temperaturen, die die Giftigkeit herabdrücken oder aufheben (80 bis 100°), so geht die Antigenfähigkeit verloren.

Beginnt man aber zur Immunisierung mit sehr kleinen Dosen abgetöteter Kultur, so kann man unter sehr vorsichtiger Steigerung bei Auswahl geeigneter Dysenteriestämme sehr wohl eine ziemlich weitgehende Immunität erzeugen.

P. Th. Müller[1] immunisierte Meerschweinchen intraperitoneal mit Bouillonkulturen (Erhitzung auf 55—60° 20 Minuten), Dombrowsky Kaninchen subkutan mit Suspensionen, die 1 Stunde bei 60° abgetötet waren (Agar, 24 Stunden 37°), Doerr desgleichen mit 1 Stunde bei 65° abgetöteten Bacillen.

In jedem Falle aber muß man auf Verluste gefaßt sein, man wird stets mehrere Tiere im Versuch halten und muß hier ganz besonders darauf bedacht sein, nicht eher eine erneute Injektion vorzunehmen, als bis sich die Folgen der letzten (Gewichtsabnahme, Paresen etc.) ausgeglichen haben. Mit welchen Dosen man beginnen soll, läßt sich wegen der schwankenden Giftigkeit der einzelnen Ruhrstämme nicht sagen.

Immunisierungsschemata (zur Agglutiningewinnung) s. S. 179.

Relativ besser vertragen größere Tiere abgetötete Ruhrbacillen (Hammel, Ziegen, Esel, Pferde). Die ersten Versuche stammen von Kruse, der Esel und Pferde subkutan, danach intravenös mit steigenden Dosen bei 60° abgetöteter Ruhrbacillen behandelte. Die Bacillen entnahm er jungen Agarkulturen.

Um die bei Pferden nach Injektion erhitzter (56°) Dysenteriebacillen auftretende starke Reaktion zu vermeiden, behandelten Ruffer & Willmore die Emulsion mit Salzsäure und Pepsin und neutralisierten. Die Tiere vertrugen dies Antigen (hergestellt aus 15 Agarröhrchen) intramuskulär gut.

Aehnlich verfuhren Hida & Toyoda (bei Meerschweinchen, Kaninchen). Dieselben Autoren berichten über Versuche der Immunisierung per os bei Meerschweinchen mit bei 60° abgetöteten Dysenterie- (auch Cholera-, Typhus-) bacillen: das Resultat war negativ. Hingegen will Shiga auf dem gleichen Wege bei Kaninchen Erfolge erzielt haben, die ihn zu der Anwendung des gleichen Modus bei Menschen ermutigten (s. S. 137).

Versuche am Menschen.

Kruse[1] injizierte 1 ccm einer eintägigen bei 55° 1 Stunde abgetöteten Bouillonkultur subkutan. (Vorderarm.) Reaktionserscheinungen lokal: ausgedehnte schmerzhafte Infiltration, die erst nach einer Woche zurückging. Agglutinationstiter bis 1:200. Allgemein: leichtes Fieber, Unwohlsein. Die gleiche Methode befolgte Rosenthal, der schwere Allgemeinerscheinungen beobachtete, nach Einspritzung von 1 ccm abgetöteter Bouillonkultur traten Agglutinine nicht auf. Ebenfalls über schwere Allgemeinerscheinungen berichtet Shiga[1], Agarkultur-Emulsion, 1 Stunde bei 60° abgetötet, Impfdosis $^1/_{12}$ Kultur.

Weitere Versuche sind beschrieben von Lucksch, Lüdke[1], Shiga (per os, s. oben).

Lucksch benutzte Impfstoffe gegen Ruhr, die nach dem Verfahren von Pfeiffer-Kolle (bei Typhus) hergestellt waren. Er verabreichte 0,5—1 ccm (= $^1/_2$—1 Oese). Er mußte diese Methode aufgeben wegen der schweren lokalen Erscheinungen, auch blieb Erhöhung des bakteriolytischen Serumtiters aus oder war minimal.

Günstiger liegen die Verhältnisse bei der aktiven Immunisierung gegen Typus Flexner und Y. Auch hier verwandte LUCKSCH die Antigenherstellung nach PFEIFFER-KOLLE (1 ccm = 2 Oesen). Nach Injektion von 0,5 ccm und einer 8 Tage später erfolgten zweiten Injektion von $1^1/_2$ ccm Impfstoff trat bei der geimpften Person eine Erhöhung des bakteriziden Titers auf, welche diejenige von Rekonvaleszenten übertraf (Flexner- oder Y-Dysenterie). Schädliche Nebenwirkung wurde nicht beobachtet.

f) Pest. Die Pestbacillen gehören zu jenen Antigenen, die sehr vorsichtig zu erhitzen sind, wenn sie nicht ihre Fähigkeit, Antikörperbildung auszulösen, verlieren sollen. Nach den Beobachtungen der Deutschen Pestkommission zerstört Kochhitze das Antigen in kürzester Zeit. Am mildesten wirkt das 2 Stunden lange Erwärmen auf 51° oder das einstündige Erwärmen auf 65° (Agarkulturen, aufgeschwemmt in Bouillon), letzteres Verfahren ist das empfehlenswertere. Zur Kontrolle auf Sterilität genügt aber hierbei die Nährbodenimpfung nicht, vielmehr sind Tierversuche (Meerschweinchen, Ratte) anzuschließen. Namentlich wenn die Suspension eine sehr dichte ist, wird man auch bei einstündiger Erwärmung auf 65° mißtrauisch sein müssen, ob wirklich vollständige Sterilität eingetreten ist. KOLLE empfiehlt deshalb die Abtötung bei dieser Temperatur im Schüttelapparat vorzunehmen. Freilich ist zu berücksichtigen, daß bei diesem Verfahren der Impfstoff wesentlich andere Beschaffenheit annimmt (vgl. hierzu S. 61).

Einzelheiten über die aktive Immunisierung gegen Pest mit abgetöteten Kulturen sind bei WASSERMANN-LEUCHS[2], sowie in diesem Handbuch, Bd. IV zu finden, die Methoden unterscheiden sich prinzipiell nicht von den bisher genannten, es seien daher hier nur einige Unterschiede skizziert.

Versuche am Tier.

1. Kaninchen, Meerschweinchen.

YERSIN, CALMETTE & BORREL: Agarkulturen, in Bouillon aufgeschwemmt, 1 Stunde auf 58° erhitzt. Kaninchen, Impfung intravenös oder subkutan in krankmachender Dosis. Am besten 3—4malige Behandlung in 5-tägigen Zwischenpausen. Schutz gegen tödliche subkutane Dosis lebender Pestbacillen. Methode für Kaninchen ziemlich sicher, nicht für Meerschweinchen.

2. Ratten, Meerschweinchen.

KOLLE[4]: Agarkulturen, mehrere Stunden auf 65° erhitzt. Impfung von Ratten und Meerschweinchen subkutan. Schutz gegen die 16 Tage später erfolgende subkutane tödliche Dosis mit lebender Kultur.

3. Affen. WYSSOKOWITZ & ZABOLOTNY: Agarkulturen auf 60° erhitzt. Die Affen zeigten Immunität vom 7. Tage ab, sie war nach 3 Wochen noch nachweisbar.

4. Affen (Makaken). Deutsche Pestkommission (Bericht S. 307). Eine ganze 2-tägige durch Erhitzen (1 Stunde 60° oder 65°) abgetötete Pestkultur subkutan. Schutz gegen eine Oese lebender Kultur (subk.). Der Impfschutz ist vollständig erst nach 7 Tagen entwickelt. $^1/_2$ Kultur schützt nicht sicher.

Durch Makakenimmunisierung wurde von der Deutschen Pestkommission festgestellt, daß der Zusatz von 0,5 Proz. Phenol zu dem erhitzten Antigen irrelevant ist, hingegen zerstört die Karbolsäure die immunisierenden Substanzen in den Pestbacillen, wenn sie auf die noch lebenden Kulturen einwirkt.

5. Ratten. Deutsche Pestkommission (Bericht S. 312). Subkutane (auch intraperitoneale) Injektion von 2 Pestagarkulturen (2 Tage alt, 65° 1 Stunde, 24 Stunden mit 0,4 Proz. Phenol konserviert) schützten fast in jedem Falle gegen subkutane Einverleibung einer Oese lebender Kultur. Niemals waren die hochimmunisierten Ratten gegen kleine Mengen per os verabreichter lebender Pestkultur geschützt.

6. Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen konnten LUSTIG & GALEOTTI mit Kulturen, welche 1 Stunde lang auf 80, 70 und 60° erwärmt waren und in

Pausen von 5—7 Tagen verimpft wurden, gegen intraperitoneale oder subkutane Infektion nicht schützen (lediglich verzögerter Infektionsverlauf).

7. Ratten konnten Tavel, Krumbein & Glücksmann mit dem Vaccin Haffkines und der Deutschen Kommission immunisieren, und zwar zeigte 1 Ratte nach einmaliger Impfung von 5 ccm Vaccin Haffkine und einer 10 Tage später nachfolgenden intraperitonealen Infektion mit 1 Oese Pestkultur vollständige Immunität, von dem Impfstoff der Deutschen Kommission wurden je 6 ccm auf 2 Ratten verabreicht, die ebenfalls immun blieben. Meerschweinchen mit abgetöteten Pestkulturen ausreichend zu immunisieren, gelang diesen Autoren nicht.

Impfungen des Menschen.

1. Haffkinesche Methode (Schilderung von Schottelius).

„Ein Kilo mageres Ziegenfleisch wird — von Sehnen und Bindegewebe usw. tunlichst befreit — in einer Fleischmühle fein zermahlen, sodann mit 125 g Salzsäure übergossen, im Autoklav bei 3 Atmosphären Druck mehrere Stunden digeriert, dann entsteht aus dem Ganzen eine gleichmäßig dunkele, bernsteingelbe, dick-ölflüssige Masse. Diese wird filtriert und mit Wasser soweit verdünnt, daß ein 1-proz. Pepton- resp. Albumingehalt der entstehenden Bouillon herauskommt. Es gehört dazu etwa die 7-fache Menge Wasser als Zusatz. Diese Bouillon wird mit Kal. carbon. neutralisiert, durch Kochsalzzusatz auf den physiologischen Kochsalzgehalt gebracht, nochmals sterilisiert, und bildet nun bei einer Temperatur von 30° den besten Nährboden für Pestbacillen. Diese Bouillon wird in große Glaskolben von ca. 20 cm Durchmesser mit flachem breiten Boden eingefüllt; in jeden Kolben kommen etwa $2^1/_2$ Liter, so daß die Bouillon eine tunlichst große, der Luft ausgesetzte Oberfläche hat und etwa 3—4 Finger hoch im Kolben steht. Um die Pestbacillen zu zwingen, an der Oberfläche zu wachsen, werden nun einige Tropfen Olivenöl hinzugetan; an den Tröpfchen dieses Oeles, welche auf der Bouillon schwimmen, haften dann viele der eingeimpften Pestbacillen an und wachsen von diesen festen Punkten aus als Haut über die Oberfläche der Bouillon (Stalaktitenbildung)“.

Züchtung 6 Wochen lang, alle 2 Tage Schütteln der Kolben, um immer neues Oberflächenwachstum zu erzielen. Sterilisierung der Kolben bei 65° mehrere Stunden. Sterilitätskontrolle. Zusatz von 0,5 Proz. Phenol.

Impfung erfolgt am Oberarm oder Bauchhaut.

Impfdosis (subkutan):

Erwachsene Männer	3—3,5 ccm
Erwachsene Frauen	2—2,5 „
Kinder über 10 Jahre	1 „
Jüngere Kinder	0,1—0,3 „

Es können auch größere Mengen verabreicht werden (bis 20 ccm).

Erscheinungen: Temperaturanstieg, Schwellung, Rötung der Impfstelle.

Die Erscheinungen sind nach 1—2 Tagen abgelaufen. Empfohlen wird erneute Impfung nach 8—10 Tagen, Dosierung richtet sich nach den Erscheinungen der ersten Impfung.

2. Nachdem von der Deutschen Pestkommission festgestellt war, daß die Filtrate frischer und älterer Bouillon-Pestkulturen keine oder eine nur geringe immunisierende Wirkung entfalten, daß vielmehr die Bacillenleiber zur Erzielung eines ausreichenden Schutzes zur Verwendung kommen müssen, wählte die Deutsche Pestkommission an Stelle des aus Bouillonkulturen hergestellten Haffkineschen Impfstoffes einen aus Agarkultur gewonnenen:

Zweitägige vollvirulente Agarkulturen werden in Bouillon oder physiolog. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und 1—2 Stunden lang auf 65° erhitzt. Danach Zusatz von 0,5 Proz. Phenol.

Kolles[5] Modifikation (Schütteln) vgl. oben S. 51.

Er verwendet zur Erzielung großer Kulturausbeuten 2 cm weite Kulturröhrchen, Agar von fester Konsistenz und reichliche Befeuchtung bei der Aussaat. Eine Agarkultur enthält dann nach Kolle soviel Bakterienmaterial wie 80—100 ccm Haffkinescher Impfstoff.

Modifikation nach TAVEL-KRUMBEIN-GLÜCKSMANN.

Verwendung von Agarflaschen, die 3 Tage bei 30° gehalten werden. Abschwemmen mit steriler Bouillon, Abtöten 1 Stunde bei 65° im Heißluftschrank. Für je 10 qcm Kulturfläche werden 3 ccm Bouillon zur Aufschwemmung benutzt (= Dosis für den Erwachsenen).

Von dem Impfstoff der Deutschen Kommission ist die endgültige Dosierung für Menschen noch nicht festgestellt. Es wird zunächst empfohlen eine Agarkultur zu injizieren (Erscheinungen: in manchen Fällen Fieber und erhebliche lokale Entzündung, bei der Mehrzahl sind die Erscheinungen nur gering).

Modifikation CRUZ.

CRUZ verwendet Pestkulturen, die nach den verschiedenen Verfahren zu höchster und konstanter Virulenz gebracht sind — außer den bekannten erwähnt er die intraperitoneale Verimpfung gleichzeitig mit Milchsäure, Methode des Instituts de Manguinhos) und züchtet auf 4-proz. Glyzerinagar in ROUXschen Flaschen von 1200 ccm Kapazität auf Agar, der die Fläche von 220 qcm bietet. Impfung der Oberfläche durch Ueberfließenlassen von Bouillonkultur. Züchtung bei Zimmertemperatur 2 Tage. Abschwemmen des Rasens mit 16 ccm 0,75-proz. Kochsalzlösung, filtrieren durch engmaschiges Sieb. Sterilisieren im Wärmeschrank bei 65° 1 Stunde. (Thermometerkontrolle in Kolben mit gleicher Menge Kochsalzlösung.) Sterilitätsprüfung durch Kultur und Tierversuch. Zusatz von 0,5 Proz. Karbolsäure.

Da in der Praxis die Dosierung der Deutschen Pestkommission, wie auch TAVEL feststellte, nicht ausführbar ist, so arbeitete CRUZ eine besondere Methode aus, die von der Bestimmung des mittleren Gewichts der auf 2-tägigen Glyzerinagarkulturen (35°) gewachsenen, emulsionierten und 1 Stunde bei 65° gehaltenen Bacillenmenge ausgeht, diese werden mit Kochsalzlösung gewaschen, so daß alle löslichen Stoffe in Wegfall kommen. Von der gewaschenen und durch Schütteln gleichmäßig verteilten Emulsion wird eine abgemessene Menge (2 ccm) in einen Platintiegel übertragen, auf dem Wasserbad eingedampft und 1 Tag über Schwefelsäure getrocknet. Ergibt die Wägung z. B. einen Trockenrückstand von 80 mg, so enthielt dieser 65 mg Bacillenleiber und 15 mg NaCl (da die Kochsalzlösung 0,75-proz. war). Als mittleres Gewicht der Bacillenleiber einer Agarkultur hat CRUZ 3 mg ermittelt. Will man in 2 ccm Volumen 3 mg Kulturmasse (= Impfdosis der Deutschen Kommission) haben, so ist durch Proportion der nötige Verdünnungsgrad zu ermitteln.

Beispiel: 2 ccm der konzentrierten Emulsion ergeben = 80 mg Trockengewicht. d. h. 65 mg Bacillenleiber + 15 mg NaCl.

$$2 \text{ ccm} : 65 \text{ mg} = x : 3 \text{ mg}, \ x = 0{,}0923$$

d. h. man muß zu 0,0923 ccm der konzentrierten Emulsion 1,9077 ccm physiolog. Kochsalzlösung hinzufügen, um in 2 ccm Volumen 3 mg Kulturmasse (= 1 Dosis) zu haben. Hatte man 16 ccm konzentrierte Emulsion, so erhält man durch Zugabe von 330,66 ccm Kochsalzlösung ($0{,}0923 : 1{,}9077 = 16 : x$

$$x = \frac{1{,}9077 \times 16}{0{,}0923} = 330{,}66)$$

eine Bacillensuspension, von der 2 ccm 3 mg enthalten.

g) Streptokokken. NEUFELD[2] empfiehlt die Streptokokken aus Ascitesbouillonkulturen (1 Teil Ascites, 3—4 Teile Bouillon) auszuschleudern, den Satz auf 68°, höchstens 70° zur Abtötung zu erhitzen und intravenös oder subkutan zu injizieren. Er erreichte Immunität (Kaninchen) schon mit der Bakterienmenge aus 20 ccm Bouillon, in der Regel nahm er das Zentrifugat von 50 ccm. Die Tiere vertragen nach etwa 10 Tagen vollvirulente Streptokokken. v. LINGELSHEIM erhitzt mindestens 1 Stunde auf 70°, injiziert intravenös und vermeidet die subkutane Applikation wegen Knotenbildung und Eiterung.

NEUFELD widerrät die mehrmalige Verabreichung der abgetöteten Streptokokken.

Mäuse zu immunisieren gelang GABRITSCHEWSKY[1] mit bei 60° abgetöteten Streptokokken nicht, hingegen Kaninchen (in 4 von 6 Fällen). Erste Injektion intravenös 0,5—1 ccm, zweite Injektion 1,0—2,0 ccm. Derselbe Autor stellte auch ein Streptokokkenvaccin gegen Pferdedruse her.

GABRITSCHEWSKYS Streptokokkenvaccin bei Pferdedruse.

Züchtung der Drusestreptokokken 2 Tage bei 37° auf einer Bouillon mit 0,3 Proz. Traubenzucker, 3 Proz. Pepton. Zusatz von 20-proz. Sodalösung nach 24 Stunden bis zur schwach alkalischen Reaktion (zur Beseitigung der gebildeten Säure). Oder aber: Züchtung auf Pferdebouillon mit 1 Proz. Traubenzucker und 3 Proz. Pepton 2 Tage; dann Zusatz von 0,5 Proz. Phenol, Aufgießen auf Zylinder zum Absetzen. Der $^1/_{10}$ des ursprünglichen Bouillonquantums enthaltende Niederschlag ist das Drusevaccin. Sterilitätsprüfung in Bouillon mit Zusatz von Traubenzucker oder Pferdeserum. 1 ccm Vaccin enthält 0,1 ccm Streptokokkenmasse beim Zentrifugieren = 0,02 g Trockengewicht. (Das Zentrifugieren geschieht in Röhrchen von 3 ccm Volumen mit engerem, auf 0,01 ccm graduiertem Endteil. 10 Minuten langes Zentrifugieren bei 1000 Umdrehungen in der Minute.)

Anwendungsweise: In Pausen von 7—10 Tagen subkutan 10, 15, 20 ccm.

Immunisierung des Menschen.

GABRITSCHEWSKY benutzte Streptokokken von Scharlachfällen, Herstellung und Konzentrierung der Kulturen wie bei dem Drusestreptokokkenvaccin; Abtötung bei 60°, 0,5 Proz. Phenolzusatz. 1 ccm Vaccin enthält 0,02—0,03 ccm Kokkensatz nach Zentrifugieren, 0,02 ccm = 0,005 g Trockensubstanz. Subkutan (Abdomen oder Rücken) 0,5 ccm (für Kinder von 2—10 Jahren), in Zwischenpausen von 7—10 Tagen noch weitere Injektionen (0,75—1,0). Die Dosis richtet sich nach den Erscheinungen bei der ersten Injektion. Dosis für Kinder unter 2 Jahren ist 2mal geringer, die für Erwachsene 2mal höher.

h) Pneumokokken.

Kaninchen konnten G. und F. KLEMPERER durch Pneumokokkenbouillonkulturen immunisieren, die 1—2 Stunden lang bei 60° erhitzt waren (subkutan). MENNES erhitzte zu dem gleichen Zweck Bouillonkulturen 20 Minuten auf 60—62° (0,5—1 ccm).

NEUFELD zentrifugiert die Bouillonkulturen, erhitzt die Zellleiber höchstens auf 70° und injiziert subkutan oder intravenös. Weitere Beispiele in Bd. IV.

Mischung von durch Hitze abgetötetem mit lebendem Virus.

Beispiel: KITT[2] vermischt Fleischpulverimpfstoff von Rauschbrand (präpariert im strömenden Wasserdampf) mit lebenden Bouillon-Reinkulturen (Mischung verschiedener Stämme). Weniger gleichmäßig war die Impfwirkung, wenn er Kultur allein (Blutbouillon, auch getrocknet bei 37—45°) einführte. S. Bd. IV.

Beispiele für die Verwendung von erhitztem Trocken-Antigen (Methode LÖFFLER).

a) Die von LÖFFLER[2] angegebene Methode der Impfstoffdarstellung durch starkes Erhitzen der getrockneten Antigene (s. S. 40) haben FRIEDBERGER & MORESCHI[2] befolgt und ein solches Typhusantigen auch zur Immunisierung von Menschen benutzt.

Da nach ihren Untersuchungen mit Typhus und Cholera durch die einstündige Anwendung der Temperatur von 150° diese Antigene (Agglutinogen, Lysinogen) zum größten Teil zerstört werden (Verwendung von Minimaldosen) und auch nicht mehr in Kochsalzlösung gleichmäßig verrieben werden können, so wählten sie 120° als Abtötungstemperatur (2 Stunden). Auch bei Anwendung von Minimaldosen ($^1/_{100}$ Oese) ist dann der Impfstoff nach diesen Autoren gleichwertig den 60°-Bakterien von PFEIFFER-KOLLE.

Versuche am Menschen (Typhus). Die Injektion des in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten Impfstoffes erfolgte alsbald nach der Präparierung in die Vena mediana. Beispiel der Impfstoffbereitung: 1 Oese Agarkultur = 2,01 mg (Durchschnittswägung von 10 Oesen). Trocknung im Exsikkator bis zur Gewichtskonstanz und nachherige Erhitzung auf 120° = 0,78 mg. $^1/_{1000}$ Oese also = 0,00078 mg. Zum Versuch gelangten Dosen von $^1/_{50}$ Oese (= 0,0156 mg) bis $^1/_{4000}$ Oese (= 0,000195 mg Bakteriensubstanz). Bei $^1/_{4000}$ Oese trat Fieber nicht ein, geringes bei $^1/_{2000}$, bei $^1/_{500}$ bis 39,0. Das Fieber begann 2—4 Stunden nach der Injektion, erreichte den Höhepunkt nach 6—10 Stunden und dauerte 1—1$^1/_2$ Tag. Von dem Impfstoff vertragen Meerschweinchen intraperitoneal, Kaninchen intravenös mindestens 4 Oesen.

Die Werte für die Agglutinine bei den 13 schutzgeimpften Personen sind schwankend und im allgemeinen keine sehr hohen, in einem Falle allerdings agglutinierte 1:1280 noch ($^1/_{1000}$ Oese). In 8 Fällen wurde der bakterizide Titer bestimmt, er betrug in einem Falle über 0,01, in zwei Fällen mit $^1/_{1000}$ Oese noch 1—5 mg, diesen Wert zeigte auch eine Person nach der Impfung mit nur $^1/_{4000}$ Oese. Der höchste Wert betrug 1,0—0,5 mg (nach $^1/_{50}$ Oese, welche Dosis aber für die Praxis wegen schwerer Intoxikationserscheinungen nicht in Betracht kommt). Bei zwei Menschen wurden 2$^1/_2$ Monate nach der Impfung die Titer festgestellt, sie betrugen 1—5 und 5—10 mg.

FRIEDBERGER & MORESCHI heben hervor, daß der LÖFFLERsche Impfstoff, weil abwägbar, exakt zu dosieren ist, daß er ferner nicht wie die Impfstoffe von PFEIFFER-KOLLE, WRIGHT u. a. „autolytischen" Zersetzungen unterliege. Die von ihnen geübte Methode der intravenösen Verabreichung ist zwar umständlich und wohl auch in manchen Fällen nicht ungefährlich, sie zieht aber keine lokalen Reaktionen nach sich.

b) LÜDKE[1, 6] hat die von LÖFFLER angegebene Trockenerhitzungsmethode benutzt, um ein Ruhrantigen herzustellen: er verwandte 3—4-tägige Kulturen und erhitzte 2 Stunden auf 110—130°. 0,005 g Trockenpulver in 1 ccm physiologischer NaCl-Lösung wurde intravenös einem kräftigen Kaninchen injiziert, was gut vertragen wurde. Nach 12 Tagen Agglutinationstiter 1:200, bakterizider Titer 0,05 ccm. Die Resultate sollen hinter den mit lebenden oder toten Bacillen erreichten zurückstehen (Schutzwert des Serums), indessen vermutet LÜDKE, daß er das Erhitzen vornahm, noch ehe vollständige Trocknung erreicht war.

c) Für die aktive Immunisierung gegen Tuberkulose ist das LÖFFLERsche Verfahren von ihm selbst mit Erfolg zum Immunisieren von Meerschweinchen gegen Rindertuberkelbacillen benutzt worden. Das Antigen wurde aus Rinderbacillen hergestellt, die subkutane Impfung mit Typ. bovinus, der die Kontrolltiere in ca. 2 Monaten tötete, überstanden die vorbehandelten Tiere.

WEBER & TITZE trockneten die auf Glyzerinbouillon gewachsenen menschlichen Tuberkelbacillen im Exsikkator über Schwefelsäure und erhitzten sie dann $^1/_2$ Stunde auf 150° im Trockenschrank. Im Meerschweinchenversuch erwiesen sich solche Tb. als abgetötet. Erhielten 6 Monate alte Rinder hiervon 1—5 cg (Aufschwemmung in Kochsalzlösung) intravenös und eine weitere Injektion nach 1—4 Monaten, so zeigten sie kein Fieber und gaben auch keine Tuberkulinreaktion. Die 2—3mal vorbehandelten Tiere erhielten 1, 3$^1/_2$ und 5 Monate nach der letzten Einspritzung Perlsuchtbacillen intravenös oder subkutan. Eine gewisse Widerstandsfähigkeit der vorbehandelten Tiere war zu konstatieren, diese äußerte sich namentlich darin, daß die Tiere nur geringe Störung des Allgemeinbefindens aufwiesen, es kontrastierte damit stark die Schwere der bei der Sektion erhobenen tuberkulösen Veränderungen, eine Divergenz, die die Autoren damit erklären, daß die Vorbehandlung mit dem LÖFFLERschen Antigen zwar gegen die Giftstoffe, aber nicht gegen die Infektion schütze.

d) An das Löfflersche Verfahren erinnert ein von Uhlenhuth-Hübener-Xylander-Bohtz unternommener Versuch, Schweine gegen Schweinepest durch getrocknetes und dann erhitztes Blut zu immunisieren.

Virulentes Schweinepestblut wurde 24 Stunden bei 37° getrocknet und danach in verschiedenen Portionen gleichmäßig 1 Stunde lang bei 72°, 76,5°, 100° und 150° erhitzt. Die Tiere erhielten alle 8 Tage, im ganzen dreimal, je 1,0 g trockenes Blut intravenös. Die 8 Tage nach Abschluß der Vorbehandlung der natürlichen Infektion ausgesetzten Tiere erkrankten fast alle. Die Autoren geben zu, daß bei Variation des Grades und der Dauer der Temperatureinwirkung vielleicht günstigere Resultate zu erzielen sind. Hier sei darauf hingewiesen, daß die Erhitzung erst dann erfolgen sollte, wenn das Material sich im absolut trockenen Zustande befindet, was bei den oben mitgeteilten Versuchen nicht der Fall gewesen zu sein scheint.

Abtötung durch Trocknung.

Ein Verfahren, lediglich durch vorsichtiges Trocknen abgetötete Tuberkelbacillen zu erhalten, denen eine erhöhte immunisatorische Wirkung zukommen soll, ist den Höchster Farbwerken patentiert (Patentschr. Nr. 239560 vom 20. Okt. 1910).

b) Abtötung durch chemische Mittel.

Wir unterscheiden hierbei die Verfahren, die mit der Zugabe von Chemikalien lediglich die Lebensäußerungen der Bakterien zu unterdrücken beabsichtigen, damit eine Infektion oder Vergiftung durch die bei dem Lebensprozeß gebildeten Produkte verhütet werde; davon sind in methodischer Hinsicht zu trennen die Versuche, durch Chemikalien eine Extraktion der protoplasmatischen Antigene zu erreichen (s. S. 61).

In der ersten Gruppe müßte wieder auseinandergehalten werden, ob das chemische Mittel nur die Bakterienzelleiber beeinflußt oder auch ihre giftigen Stoffwechselprodukte, die sich außerhalb des abzutötenden Zelleibes finden. Bei der praktischen Anwendung dieser Art der Antigendarstellung hat man hierauf meist nicht Rücksicht genommen. Auch ist eine Trennung der oben skizzierten Gruppen in vielen Fällen nicht möglich, da mit der Tötung oft genug eine Zellauflösung oder wenigstens ein Austritt von Stoffen verbunden sein mag, was noch nicht genügend untersucht worden ist. Nimmt man dann ferner das Schütteln zu Hilfe, um die Bakterien in innigere Berührung mit dem Abtötungsmittel zu bringen, so ist die Grenze, ob einfache Tötung oder Extraktion vorliegt, besonders schwer zu ziehen: Die chemischen Mittel sowohl wie die verschiedenen Bakterien verhalten sich dabei offenbar verschieden.

Die Dosierung der durch chemische Mittel abgetöteten Krankheitserreger für Immunisierungszwecke muß von Fall zu Fall ermittelt werden: sie richtet sich nach der Virulenz der zur Herstellung des Impfstoffes benutzten Kultur, nach dem Alter usf. Vor allem ist zu beachten, daß mit der erfolgten Abtötung ja keineswegs die Wirkung des zugesetzten chemischen Mittels beendet ist, sondern weiter geht, so daß schließlich bei langdauernder Berührung der toten Kultur mit dem chemischen Agens der Antigencharakter eine Veränderung erfahren muß, erfahrungsgemäß kann dann schon sehr bald die immunisierende Wirkung sich vermindern oder erlöschen. Man

muß daher darauf ausgehen, das Antigen durch den sterilisierenden Zusatz nicht stärker zu schädigen als es gerade notwendig ist und wird deshalb im allgemeinen weniger die Chemikalien in stärkerer Konzentration, sondern der milderen Nachwirkung wegen vielmehr stärkere Verdünnungen wählen und den Kontakt des Impfstoffes mit dem Mittel möglichst beschränken. In dieser Beziehung lassen die bisherigen Versuche, brauchbare Impfstoffe durch Abtötung mittels Chemikalien zu erhalten, noch das planmäßige Vorgehen vermissen, das gilt auch von der Auswahl der Zusätze: man hat eine Zeitlang gerade diejenigen Mittel bevorzugt, deren eklatante Desinfektionswirkung eine schnelle und sichere Abtötung des Antigens ermöglichte. Sollte man nicht weiter kommen gerade durch weniger eingreifende, milder wirkende Mittel?

Für die Beschaffenheit des durch Chemikalien abgetöteten Antigens kann es ferner nicht gleichgültig sein, welche Dichte die Bakterienemulsion besitzt, ferner in welchem Aufschwemmungsmedium sie sich befinden, bei welcher Temperatur die Einwirkung erfolgt — kurz alle die Fragen, die bei der Desinfektionswirkung der Chemikalien zu berücksichtigen sind (s. auch bei Antigenkonservierung S. 157).

In manchen Fällen hat man zur Unterstützung abtötender Mittel die Schüttelmaschine (s. S. 64 ff.) benutzt, da hierbei die zu tötende Bakterienzelle in innigere Berührung mit dem Desinficiens kommt (Glyzerinimpfstoffe Levys usf.).

Zu berücksichtigen ist, daß manche der dem Impfstoff zugesetzten Chemikalien an sich schon eine ungünstige Wirkung auf den Impfling ausüben können. Auch von diesem Standpunkte aus werden solche Mittel bevorzugt, die nach erfolgter Sterilisierung leicht zu entfernen sind (Chloroform, Aether, beide entweichen bei schwachem Anwärmen). Thymol, Toluol, Karbolsäure etc. können bei Verabreichung größerer Impfdosen giftig wirken (s. bei Antigenkonservierung S. 157).

Beispiele:

1. Chloroform. R. Pfeiffer[1] verrieb eine bestimmte Zahl von Platinösen der frischen Choleraagarkultur mit etwas Bouillon, fügte 1 Tropfen Chloroform hinzu, schüttelte 1 Minute und ließ das Chloroform absetzen; die überstehende Bouillon goß er in flache Schälchen, aus denen der Rest des Chloroforms verdunstete.

Bei diesen ersten Versuchen Pfeiffers betrug die tödliche intraperitoneale Dosis der Chloroform- (oder Thymol-, s. u.) Vibrionen 2—3 Oesen für Meerschweinchen von 300 g (die letale Dosis der lebenden Kultur intraperitoneal war dreimal niedriger).

Anstatt die Bakterienemulsionen mit Chloroform durchzuschütteln, kann man auch dadurch eine Abtötung erzielen, daß man sie den Chloroformdämpfen aussetzt. Am besten wird man hierzu die Dämpfe auf eine dünne Schicht der Bakterien einwirken lassen.

Friedberger & Moreschi[1] brachten die Cholerakochsalzemulsion in Petrischalen, in deren Deckel sich auf der Innenseite ein mit reinem Chloralchloroform getränktes Stück Filtrierpapier befand. Zur Erzielung eines genügenden Verschlusses muß das Papier den Deckel überragen. Die Suspensionsdichte war 1 Oese: 1 ccm Kochsalzlösung. Die Vibrionen waren nach 20 Minuten abgetötet. Das Serum der mit 60°-Bakterien geimpften Kaninchen (bakterizider Titer am 8. Tage nach der Impfung 0,5—0,1 mg) wirkte 10mal stärker als das der beiden mit Chloroformbakterien geimpften Tiere (bakteriz. Titer 1—5 mg). Die Impfdosis betrug $^{1}/_{100}$ Oese pro 1 kg Körpergewicht.

FRIEDBERGER & MORESCHI nehmen an, daß durch die Abtötung mit Chloroform die lysinogene Qualität der Choleravibrionen um das 10-fache geschwächt worden ist. Sie zeigten dann weiter, daß die agglutinogene Eigenschaft durch das Chloroformieren um das ca. 64-fache geschädigt wurde, die Agglutininbildung war nach Einverleibung dieses Antigens äußerst schwach. Diese Versuche bieten noch das besondere Interesse, daß es bei Innehaltung gewisser Versuchsbedingungen gelingt, die Agglutinogene von den Lysinogenen der Choleravibrionen zu trennen unter Erhaltung der Lysinogene. Bei anderen Bakterien liegen aber die Verhältnisse anders, bei Typhusbacillen sind die agglutinogenen Gruppen gegenüber dem Chloroform resistenter (vgl. auch BRIEGER & SCHÜTZE).

Bei Anwendung des Chloroforms zur Antigendarstellung wird man gut tun, eine weitere Beobachtung von FRIEDBERGER & MORESCHI [1] zu berücksichtigen, sie fanden die durch Chloroform abgetöteten Choleravibrionen wirksam, wenn diese vor der Einspritzung noch 3 Tage bei 37 ^{0} aufbewahrt wurden (vollständiges Verdampfen des Chloroforms).

2. Toluol. Die flüssigen Kulturen oder Emulsionen werden mit Toluol längere Zeit geschüttelt und 1 Tag lang mit ihm in Berührung gelassen. Entfernung des Toluols s. S. 159.

3. Für die Abtötung durch Thymol sättigte R. PFEIFFER die zur Aufschwemmung der Choleravibrionen zu benutzende Bouillon mit Thymol, die Aufschwemmung verblieb 1 Stunde bei Zimmertemperatur.

4. Formalin. Von dem Formalin des Handels (40-proz. Formaldehyd) gibt man 1 Proz. zu den Emulsionen und bewahrt unter gutem Verschluß die Mischung 1 Tag bei 37 ^{0} auf.

5. Aether wird von VINCENT zum Sterilisieren seines Typhusvaccins sowie eines zum Immunisieren von Pferden und Ziegen benutzten Antigens von Maltafieberkeimen benutzt: letztere werden von 3-tägigen Agarkulturen entnommen (1 Kultur auf 10 ccm NaCl-Lösung), die Suspension wird mit Aether versetzt, 1—2 Minuten lang kräftig geschüttelt und 1 Tag bei Zimmertemperatur belassen. Darauf zur Verjagung des Aethers kurzes Erwärmen auf 38 ^{0} (VINCENT & COLLIGNON).

6. Selten ist Alkohol angewandt worden, z. B. von WASSERMANN bei Cholerakulturen. Nach den neueren Versuchen von C. PRAUSNITZ (hier auch Literatur) kann die Verwendung des Alkohols zur Antigenherstellung wertvoll sein, da er unter Umständen unspezifische Substanzen aus Bakterien (Choleravibrionen) herauszuschaffen vermag, vgl. Extraktion S. 84.

7. Das Phenol ist ein weitverbreitetes Mittel, das lebende Antigen abzutöten: In der Regel wird es ja als Konservierungsmittel von Impfstoffen benutzt (0,5 Proz.), aber es gewährt nicht nur Schutz vor akzidentellen Keimen, sondern wird in vielen Fällen noch als Sicherung wirken und etwa überlebende Keime eines nicht genügend anderweit sterilisierten Impfstoffes unschädlich machen. Es leistet aber auch als alleiniges Mittel zur Abtötung gute Dienste, freilich wird man in diesem Falle reichliche Sterilitätskontrollen anzusetzen haben.

Beispiele für Abtötung durch Phenol: a) Die Herstellung des Vaccins für die HAFFKINEsche Schutzimpfung des Menschen

gegen Cholera modifizierte Tamamcheff dahin, daß er sowohl Vaccin I als II mit 0,5 Proz. Phenol versetzte: die örtlichen Erscheinungen sollen danach milder verlaufen.

b) Hier ist auch an die Beobachtung der Deutschen Pestkommission zu erinnern, daß die Pestbacillenantigene durch die Karbolsäure schwer geschädigt und zerstört werden, sofern man die Karbolsäure der frischen, lebenden Kultur zusetzt: eine 2-tägige Pestagarkultur wurde mit 1 ccm 0,5-proz. Karbollösung aufgeschwemmt, die Emulsion blieb 1 Tag bei 30° stehen: die hiermit vorbehandelten Makaken erlagen der Kontrollimpfung mit der lebenden Kultur. Erfolgt hingegen der Zusatz des Desinficiens zu der durch Hitze (65°) abgetöteten Bakterienemulsion, so wirkt die nachträglich zugesetzte Karbolsäure auf das Antigen nicht schädigend (sc. eine bestimmte, in jedem Fall vorher zu ermittelnde Zeit lang).

c) Ein brauchbares Antigen durch Abtöten mit Karbolsäure erhielten zur Pneumokokkenimmunisierung E. Levy und K. Aoki: sie versetzten 48-stündige Eierbouillon von Pneumokokken mit 0,5 Proz. Karbolsäure und gaben die Mischung auf 4—15 Stunden in den Brutofen bei 37°. Abtötung war nach 1 Stunde erfolgt, nach 4 und mehr Stunden wurde die karbolisierte Kultur selbst in großen Mengen bei subkutaner Injektion von Kaninchen vertragen.

Kaninchen (2000—2500 g), die mit kleinen Mengen dieser Karbolkokken (1—10 ccm intravenös, 1—15 ccm subkutan) einmal vorbehandelt wurden, zeigten sich immun gegen die 10—17 Tage später erfolgte Injektion der 10-fach tödlichen Dose frisch isolierter Pneumokokken; Kaninchen, die einmal 40 ccm des karbolisierten Impfstoffes subkutan erhielten, vertrugen die 10000-fache tödliche Dosis. Einen noch höheren Grad der Immunität erreichten L. u. A., wenn sie Kaninchen dreimal hintereinander mit 1-tägigen Zwischenpausen subkutan je 45—50 ccm des Impfstoffes injizierten, die Tiere vertrugen die 2000000-fache letale Dosis 9 Tage nach der letzten Impfung. Bei den mit der 10-fachen letalen Dosis geprüften Tieren war der Beginn der Resistenzsteigerung am 3. Tage nach der Impfung nachzuweisen, vom 6. Tage ab war die Immunitätshöhe erreicht.

Weniger eingreifend als die Karbolsäure wirkt i. A. das Karbolglyzerin: 10 Acid. carbol. crist., 20 Glyzerin, 80 Aqu. dest. Hiervon setzt man 5 Proz. zu der Bakterienemulsion (Neisser & Wechsberg).

8. Trikresol kann zu 0,5 Proz. verwendet werden. Gay benutzte zum Immunisieren von Pferden gegen Ruhr Aufschwemmungen mit Zusatz von 0,5 Proz. Trikresol, die die Pferde subkutan gut vertrugen. Das Antigen wurde aber wesentlich abgeschwächt, wenn der Trikresolzusatz bei abgetöteten Kulturen erfolgte. (Das umgekehrte Verhalten konstatierte, wie oben erwähnt, die Deutsche Pestkommission für die Wirkung der Karbolsäure auf das Pestbacillenantigen.)

9. Glyzerin wird vielfach als Abtötungsmittel angewandt. Wie es scheint, werden verschiedene Antigene hierbei relativ wenig geschädigt, man rechnet es ja auch zu den sogenannten indifferenten Körpern. Ueber die Zeit, innerhalb welcher die verschiedenen Bakterien in Glyzerin abgetötet werden, unterrichtet eine Arbeit von Levy & Krencker.

Tuberkelbacillen tötet E. Levy dadurch ab, daß er sie in 80-proz. Glyzerin gibt (80 Volumina des Pharmakopoeglycerins, 20 Volumina Aqua dest.) und 2 Tage bei 37° hält. Natürlich ist das Quantitative dabei zu beachten. Levy nimmt 0,001 g auf 1 ccm des Glyzerinwassers. Dies Antigen ist alsbald nach der Herstellung zu verwenden, da schon bei Zimmertemperatur bei weiterer Berührung mit dem Glyzerin die Abschwächung fortschreitet. Die von Marxer geübte Glyzerinbehandlung von Tb. gehört wohl eher unter die Ex-

traktionsverfahren (s. S. 82). Levy ist, da es ihm nicht gelang, aus der Emulsion von abgetöteten Tuberkelbacillen das Glyzerin völlig zu entfernen, zu anderen Mitteln übergegangen.

Auch aus Versuchen mit Rotzbacillen, die Levy, Blumenthal & Marxer anstellten, geht hervor, daß Glyzerin zur Antigengewinnung geeignet ist: Die Rotzbacillen starben in 14 Stunden ab, wenn sie in 80-proz. Glyzerin bei 37° in einer Konzentration von 0,1 g Bacillen auf 4 ccm Flüssigkeit geschüttelt wurden. Erhielten Meerschweinchen intraperitoneal einmal oder zweimal 0,05 bis 0,2 g (auf feuchte Agarbacillen berechnet), so beobachteten die Autoren Schutz gegen die 4—5-fache intraperitoneale letale Dosis (2—8 Wochen nach der letzten Schutzimpfung). Pferde wurden nach subkutaner und intravenöser Impfung mit 0,1—0,4 g glyzerinierter (23 Stunden lang geschüttelter) Bacillen immun.

10. Harnstoff wurde von Levy, Blumenthal & Marxer zum Abtöten von Bakterien verwendet.

a) Von Rotzbacillen erhielten sie nach 17-stündigem Schütteln von 0,1 g Bacillen (feucht, auf Agar) in 4 ccm 10-proz. Harnstofflösung (oder nach $7^1/_2$-stündigem Schütteln von 10 mg Bacillen in 1 ccm 10-proz. Harnstofflösung) ein steriles Antigen, das in der Dosis von 0,05 g Meerschweinchen schützte. Die Verwendung des Harnstoffes hat vor der des Glyzerins voraus, daß die Einwirkung der Lösung auf die Bakterien jederzeit unterbrochen werden kann, indem man die Lösungen im Vakuum zur Trockne eindampft. Das trockene Pulver ist leicht wasserlöslich. — Bei der Immunisierung von Meerschweinchen mit derart abgetöteten Rotzbacillen erwies sich die subkutane Injektion am vorteilhaftesten, es genügte schon eine einmalige Einfuhr großer oder auch kleiner Dosen, hingegen erhält man bei intraperitonealer Impfung Schutz nur nach zweimaliger Vorbehandlung mit mittleren Dosen.

b) Bei Typhusbacillen ergab 1-tägiges Schütteln bei 37° mit 25-proz. Harnstoff, nachfolgendem Trocknen im Vakuum bei niederer Temperatur ein steriles Antigenpulver, das bei subkutaner Einverleibung von 1—2 mg (auf feuchte Agarbacillen berechnet) Meerschweinchen gegen die 5—10-fache tödliche intraperitoneale Dosis schützte.

c) Tuberkelbacillen werden von 25-proz. Harnstoff in der Konzentration 0,1 g Bacillen auf 5 ccm Lösung durch Schütteln bei 37° in $8^1/_2$ Tagen abgetötet, die Tiere vertragen sehr große Dosen dieses Impfstoffes (Meerschweinchen bis 35 mg subkutan). Immunisierung von Meerschweinchen siehe Levy, Blumenthal & Marxer.

Nimmt man durch 25-proz. Harnstofflösung abgetötete und im Vakuum getrocknete Tuberkelbacillen (vom Rind), so vermögen sie bei intravenöser (20 bis 50 mg) Verabreichung auch Kaninchen gegen die 10—12 Wochen später verabreichte Dosis virulenter Bacillen zu schützen, während die Kontrolltiere der Infektion nach 7 Wochen erlagen.

d) Marxer[1] stellte Harnstoffstreptokokkenpulver her, indem er die Streptokokken (Druse, Menschenstreptokokken) $3^1/_2$ Tage bei 37° schüttelte, das erhaltene sterile Pulver enthielt im Gramm 80 mg Bakterien. Die Kaninchen zeigten sich nach zweimaliger Vorbehandlung mit 20—40 mg und 80 bis 100 mg (subkutan im Zwischenraum von 8 Tagen) oder bei dreimaliger Vorbehandlung, wie oben an drei aufeinanderfolgenden Tagen mit 5—20 oder 10 bis 30 mg nach 3 Wochen geschützt gegen tödliche Dosen von Drusestreptokokken. Die mit dem Galaktose- oder Harnstoffpulver vorbehandelten Kaninchen eigneten sich auch zur Höhertreibung der Immunität mit lebenden Drusestreptokokken (für die Serumgewinnung). Mäuse konnten mit diesen Antigenen nicht aktiv immunisiert werden.

11. Galaktose wurde von Levy, Blumenthal & Marxer ebenso wie Glyzerin und Harnstoff zum Abschwächen, Abtöten und Extrahieren benutzt (s. auch Levy & Blumenthal).

Beispiele: a) Typhusbacillen. Von 48 Stunden alten Agarkulturen (Virulenz für Meerschweinchen $^1/_{10}$ Oese intraperitoneal) werden 10 mg in 10 ccm 25-proz. Galaktoselösung 3 Tage lang bei 37° geschüttelt, wobei sichere Abtötung erfolgt. Nachträgliches Trocknen im Vakuum. Das Zuckerpulver immunisiert Meerschweinchen und Kaninchen bei subkutaner Einspritzung (Lösung in physiologischer Kochsalzlösung) von 1—4 mg (auf feuchte Agar-

bacillen berechnet) gegen die 5—10-fache nach 10 und mehr Tagen intraperitoneal verabreichte tödliche Dosis der lebenden Kultur.

Die Giftigkeit des Präparates ist keine sehr starke, nach 4 mg (subkutan, intraperitoneal) erkrankten Meerschweinchen nicht. Dosen von 20—30 mg (auf 4 Stellen der Subcutis verteilt) bewirkten leichte Erkrankungen, die die Tiere überstanden.

b) Tuberkelbacillen (T. humanus) werden in einer Konzentration von 5 mg auf 4 ccm 25-proz. Galaktoselösung bei 37° durch Schütteln während 4—5 Tagen abgetötet. Eindampfung im Vakuum (Tebean, Herstellung von Schering. 1 g Pulver = 5 mg Bacillen). Tuberkulöse Meerschweinchen vertragen 4 mg und scheinen damit resistenter zu werden. Bei prophylaktischen Impfungen des Menschen empfehlen Levy & Krencker $^1/_{10}$—$^1/_4$ mg. Nach 3—6 Monaten stärkere Dosen.

c) Nach der Methode von E. Levy, Fr. Blumenthal und A. Marxer haben Streptokokken-Antigene hergestellt Weawer Tunicliff sowie A. Marxer.

Der letztere schüttelte die Streptokokken (vom Menschen stammend, hochvirulent für Mäuse und Kaninchen) $4^1/_2$ Tage bei 37° in 25-proz. Galaktose und erhielt ein steriles Pulver, das im Gramm 50 mg Streptokokken enthielt. An drei aufeinanderfolgenden Tagen erhielten Kaninchen 10, 20 und 30 mg Pulver (auf Bakterien berechnet) subkutan, nach 2 Wochen subkutane Injektion virulenter Streptokokken (Druse und Menschenstreptokokken s. oben). Alle diese Tiere widerstanden der Infektion, während von den mit erhitzten Streptokokken (1 Stunde 70°) in gleicher Weise vorbehandelten Kaninchen der größere Teil starb.

Besser als die Galaktose-Streptokokken eignen sich nach Marxer sensibilisierte Streptokokken zur Schutzimpfung (Kaninchen, nachfolgende Infektion mit Mäusepassagekulturen).

IV. Immunisierung mit Extrakten.

Bakterienextrakte als Antigene zu verwenden, war eine Konsequenz der Erfahrungstatsache, daß bei einer Reihe von Infektionserregern die immunisierende Substanz an das Protoplasma der Bakterienzelle gebunden ist, da mit dem keimfreien Filtrat der jungen Bouillonkulturen solcher Bakterienarten Immunität nicht erzielt werden konnte. Um in dem zu impfenden Organismus die Antikörperbildung zu erleichtern und zu beschleunigen, bemühte man sich, die „eigentlich immunisierende“ Substanz in leicht resorbierbarer Form zu verabreichen und zu diesem Zweck aus den oft auch im Körper nur recht schwer aufschließbaren Parasitenzellen vor der Injektion das Antigen zu extrahieren.

In vielen Fällen erwies sich diese Methode als brauchbar, es gilt dabei aber auch eine Reihe von Schwierigkeiten zu überwinden: Die Extrakte sind bei manchen Bakterien stark giftig, bei einigen ist das Auftreten von störenden lokalen und allgemeinen Erscheinungen, derentwegen man gerade die Methode der Einverleibung der Zelleiber selbst durch die der Extrakte ersetzen wollte, in unvermindertem Maße beobachtet. Es kommt hinzu, daß die wirksamen Zellbestandteile sehr labiler Natur sind und alsbald eine Denaturierung erfahren, ohne daß die Giftwirkung in jedem Falle vermindert zu sein braucht.

Die Methode dürfte sich bei solchen Bakterien als überflüssig erweisen, die im Organismus einer raschen Auflösung anheimfallen. Vergleiche des Immunisierungseffektes nach Zufuhr von Vollbakterien und Extraktion sind unten wiedergegeben, hier sei die Beobachtung Dopters[3] angefügt, daß Meningokokkenserum, gewonnen durch Be-

handlung mit Kulturen, im Meerschweinchenversuch gegenüber dem Meningokokkenextrakt sich wirksamer zeigte als das durch Vorbehandlung mit dem Extrakt erzielte Serum.

Bei der durch den zu schützenden Organismus erfolgenden Extraktion dürften eben die Antigene in der natürlichsten Art und Weise zur Wirkung kommen. Wir wissen ja auch noch gar nicht, ob nicht gerade erst bei dem Kontakt dieses soeben durch den Organismus erschlossenen Parasitenprotoplasmas mit den Zellen oder Säften des Wirtsorganismus für den Immunisierungsvorgang wichtige Umlagerungen eintreten. Wir müssen jedenfalls damit rechnen, daß alle künstlichen Extraktionsverfahren uns meist nicht das reine, natürliche Antigen, sondern ein modifiziertes darstellen, das aber in manchen Fällen gewiß brauchbar ist, zum mindesten zur Einleitung der Immunität. Unbestritten wertvoll hat sich aber die Immunisierung mit Extrakten einiger Erreger von hämorrhagischen Septikämien erwiesen, gegen welche früher nur mit der größten Schwierigkeit immunisiert werden konnte. Hier haben sich die Aggressine und Schüttelextrakte allen anderen bisher verwendeten Antigenen (Bouillongiften usf.) bei weitem überlegen gezeigt. BAIL hat durch das Studium der Aggressine diese Fragen in Fluß gebracht, es soll daher auch diesem Kapitel die Aggressinimmunisierung eingereiht werden, die dann durch die Untersuchungen von WASSERMANN & CITRON geklärt und vereinfacht worden ist. Seitdem die Extraktgewinnung sich von eingreifenden Manipulationen fern hält und namentlich auch seit BRIEGERS zahlreichen Bemühungen so schonend wie möglich gehandhabt wird, haben diese Immunisierungsmethoden, die mit einem leicht resorbierbaren Antigen arbeiten, wesentlich an Terrain gewonnen und in vielen Fällen (hämorrhagische Septikämie) die Methode der Immunisierung mit abgetöteten Erregern überholt: ob sie aber die Anwendung von Vollbakterien zurückzudrängen vermögen, bleibt abzuwarten. In recht unvollständiger Weise ist bei den hierhergehörenden bisherigen Untersuchungen des Impfschutzes dessen Dauer berücksichtigt worden; es entspricht dem Charakter des Extraktantigens, daß seine Reizwirkung auf die ihm leicht zugänglichen Antikörper bildenden Zellen zunächst eine rasch und stark einsetzende, aber keine nachhaltende ist: daher die anfänglichen hohen Titerwerte, aber auch das relativ rasche Abklingen (Versuche von MACFADYEN & ROWLAND; BRIEGER-MAYER). Auffallend ist auch, daß in manchen Fällen das Extraktantigen sich als fast völlig unbrauchbar erwiesen hat, die abfallende Antikörperkurve wieder in die Höhe zu führen. Legen wir bei der aktiven Immunisierung den Hauptton auf das Wort aktiv, so scheint es, daß bei der Extraktimmunisierung der geimpfte Organismus häufig fast zu mühelos das eingeführte Antigen zu binden vermag, daß hierbei die zu länger dauernder Abwehr notwendige Trainierung der antikörperliefernden Zellen — eben infolge der leichten Resorbierbarkeit des Antigens — wegfällt im Gegensatz zu der Methode der Einführung von Vollbakterien, bei der die stimulierende Wirkung des Antigens schon infolge des immer erneuten Freiwerdens von Antigen sich ganz anders vollzieht. Es war daher auch der Gedanke folgerichtig, durch Einschluß der Extrakte in Kollodium- oder Schilfsäckchen diese Reizwirkung andauernder vor sich gehen zu lassen. Natürlich ist die Anwendbarkeit dieser Methode nur eine beschränkte (s. S. 141).

Alle diese erwähnten Mängel beziehen sich ja aber nur auf die ausschließliche Extraktimmunisierung: bei Kombinierung mit Vollbakterien, Toxinen usf., die gleichzeitig oder alternierend zu verwenden sind, wird die Methode sicherlich noch ausgezeichnete Dienste leisten, einige Beispiele hierfür sind schon vorhanden.

Streng genommen gehören in diese Gruppe nur solche Methoden, bei denen als Antigen ein von korpuskulären Elementen und Produkten des Zellebens freier Extrakt zur Verwendung kam. Um einen solchen zu erhalten, sind die Bakterienzellen, die am besten von festen Nährböden bezogen werden, von anhaftenden Stoffwechselprodukten durch Waschen zu befreien, sodann der Extraktion zu unterwerfen und durch keimfreie Filtration von dem Extrakt zu trennen.

Da indessen auf dem Wege durch den Filter oft genug eine weitgehende Abschwächung dieser labilen Stoffe eintritt, so hat man sich meist begnügt, die Scheidung des Auszugs von den Zellresten durch Zentrifugieren herbeizuführen und etwa noch überlebende Zellen durch Zusatz eines Antiseptikums auszuschalten.

Häufig werden aber von den Autoren auch solche Antigene noch als Extrakte bezeichnet, die auch die Zellreste und etwaige der Extraktion widerstehende Bakterienzellen enthalten. Damit wird freilich die Wertbemessung der einzelnen Antigenbestandteile an der Hand des Immunisierungseffektes kompliziert oder auch unmöglich gemacht.

Nimmt man zur Herstellung der Auszüge ältere Kulturen, so enthalten die resultierenden Auszüge eine ganze Reihe von Stoffen, die nicht erst durch die Extraktion gewonnen werden, da ja die Insassen der älteren Kultur in einer von Ausscheidungsstoffen, Zerfallsprodukten toter Zellen, Nährbodenbestandteilen usf. gebildeten Umgebung sich befinden. Eine scharfe Grenze zwischen Bakterien, die Gift absondern oder nicht, läßt sich nicht immer ziehen, so wird unter Umständen ein Extrakt eben nicht nur Extraktions-, sondern auch Sekretionsstoffe enthalten können, umgekehrt werden aber auch Lösungen, die man gemeinhin als reine Sekretionsgiftlösungen ansieht, Bakterienextraktstoffe enthalten müssen, da ja jedes Nährmedium Substanzen enthält, die als Extraktionsmittel fungieren können. Auf Grund dieser Erwägungen wird man in den mannigfachsten heute zur Verwendung kommenden Antigenen auch Extraktstoffe zu vermuten haben, um so weniger, je jünger die Kultur ist.

Systematische vergleichende Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit der einzelnen Extrahierverfahren sind nur selten angestellt worden, so daß heute allgemeine Angaben hierüber nur mit Vorsicht aufzustellen sind.

Sicher ist, daß — wenn man lediglich die Bakterien in Betracht zieht — die Art der Bakterien und die Auswahl des Extraktionsmittels für den Effekt der Antigengewinnung in erster Reihe stehen. Vielleicht lassen sich die Bakterien unter Berücksichtigung ihres osmotischen Verhaltens in eine bestimmte Reihe einordnen. Bei derselben Art wird das Alter der Kultur, der Ernährungszustand der Bakterienzelle, ihr Wassergehalt, ihr Quellungsvermögen usf. wieder verschiedene Bedingungen schaffen, die bei Variation des Ausgangsmittels wiederum zu Modifikationen der Resultate führen.

Für die Immunitätstechnik kommen ferner noch zur Unterstützung der Extraktion in Frage: 1. die Anwendung bestimmter Tempera-

turen, 2. das Schütteln. Früher hat man Extraktionen in der Hauptsache bei niederer Temperatur, z. B. im Eisschrank, vorgenommen unter zeitweiligem Schütteln mit der Hand. Man hat bei der niederen Temperatur den Vorteil, daß das Wachstum der Keime — auch von fremden — gehindert wird und daß erfahrungsgemäß die labilen Antigene so am besten, wenigstens eine gewisse Zeit lang, erhalten bleiben.

Das Bestreben, konzentriertere Extrakte zu gewinnen, hat dann dazu geführt, kontinuierlich mit der Schüttelmaschine die Bakterienzellen in innigen Kontakt mit dem Extraktionsmittel zu bringen (BRIEGER) und gleichzeitig durch Einwirkenlassen von höheren Temperaturen den Extraktionsvorgang zu beschleunigen.

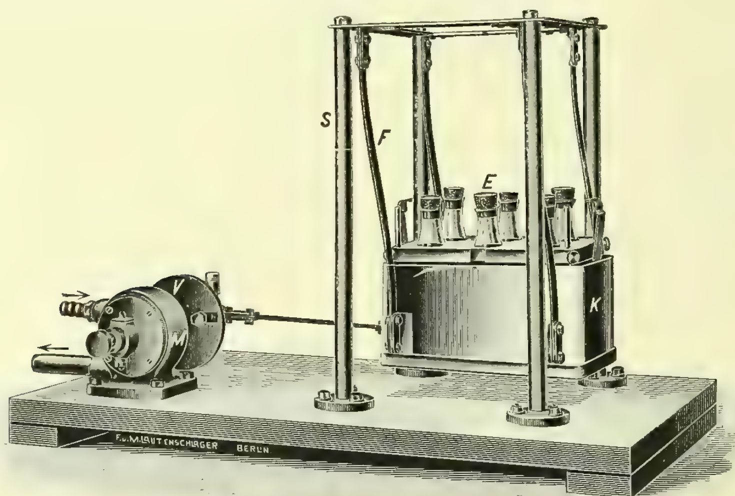


Fig. 4. Schüttelapparat mit Wasserantrieb.

Von Schüttelmaschinen (s. Fig. 4, 5, 6, 7) sind die verschiedensten Typen brauchbar, vergleichende Untersuchungen existieren nicht, und doch dürfte in den verschiedenen Laboratorien die Extraktgewinnung bei Benutzung der verschiedenen Modelle verschieden ausfallen.

Daß mit Erhöhung der Temperatur die Wirksamkeit der Extraktionsmittel sich steigert, lehrt die Erfahrung. Es wird dabei nicht gleichgültig sein, ob die suspendierten Bakterienzellen tot oder lebend sind: im letzteren Falle werden mit Annäherung an das Temperaturoptimum gleichzeitig Dissimilationseinflüsse sich geltend machen. Es wird auch einen Unterschied ausmachen, ob das Suspensionsmedium indifferent ist oder sogar noch das Wachstum anzuregen vermag, dann kann sich der Einfluß des Schüttelns zunächst auch in einem verstärkten Wachstum geltend machen: die Ernährungsbedingungen unbeweglicher Bakterien werden ja dadurch günstiger gestaltet (für Milzbrand bewiesen von A. LUCET).

Wendet man supraoptimale Temperaturen an, so erhält man sehr schnell Extrakte (Hitzeextrakte), dabei scheint sich Schütteln zu erübrigen. Vergleichende Untersuchungen über Dignität der bei

den verschiedenen Temperaturen gewonnenen Extrakte sind in ausreichendem Maße noch nicht angestellt, vorläufig muß man wohl annehmen, daß die im allgemeinen recht labilen Extraktstoffe bei den

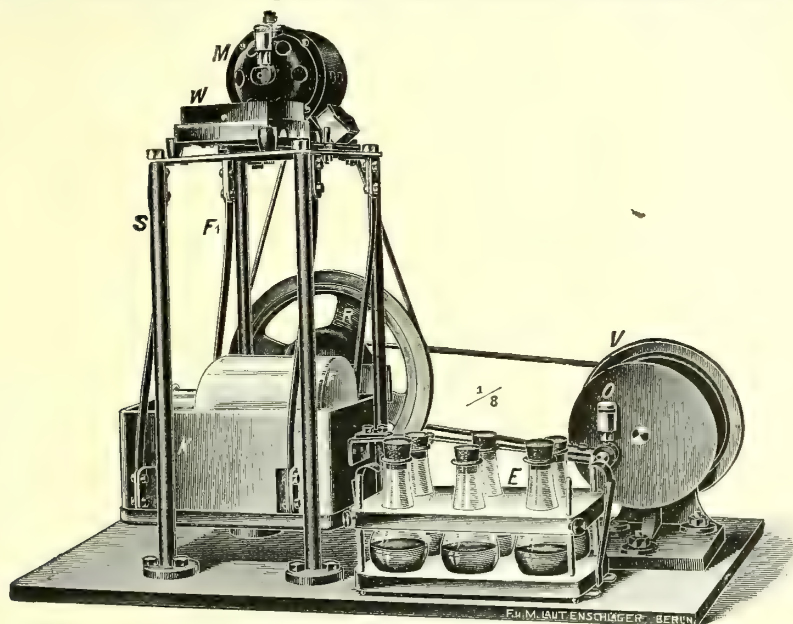


Fig. 5. Schüttelapparat mit elektrischem Antrieb.

höheren Temperaturen schon modifiziert werden, man wird mit Hinblick auf diese Antigenveränderung selbst die für das Wachstum opti-

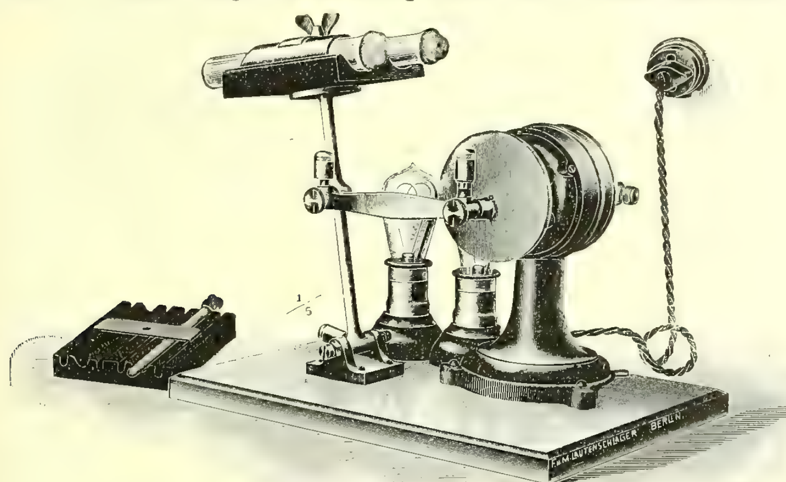


Fig. 6. Schüttelapparat mit elektrischem Antrieb.

male Temperatur aus biologischen Gründen nicht als eine optimale Extraktionstemperatur bezeichnen können.

Die Extraktion von Giftstoffen bei Temperaturen, die über dem Züchtungsoptimum liegen, ergibt in manchen Fällen aber sogar ein stärkeres Gift als die Extraktion oder Digestion bei Brütwärme. So ist das bei 60° während zwei Stunden in Kochsalzaufschwemmungen von Dysenteriekulturen gewonnene Gift stärker als beispielsweise das nach CONRADI oder NEISSER-SHIGA hergestellte Autolysat (SELTER).

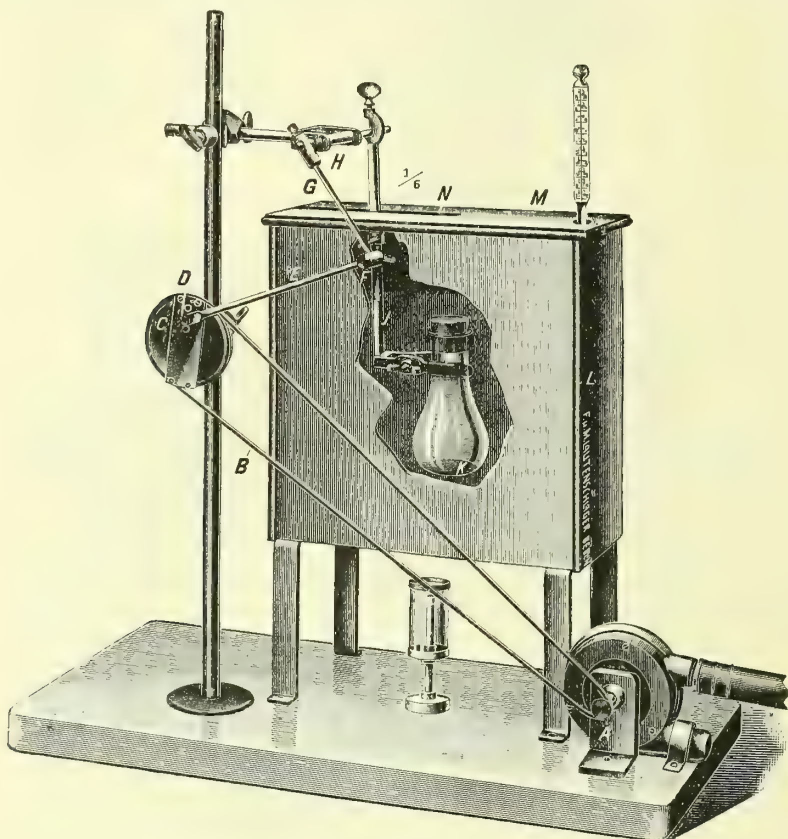


Fig. 7. Schüttelapparat zum Schütteln bei bestimmten Temperaturen. Nach UHLENHUTH.

Es ist natürlich, daß durch jedes Extraktionsverfahren die Bakterienleiber selbst qualitativen Aenderungen unterliegen, die sich auch auf ihre Antigenfähigkeit äußern müssen.

Bei subkutaner Einspritzung der extrahierten Zelleiber werden im allgemeinen bei weitem geringere örtliche Reaktionen (Infiltrate usf.) beobachtet als bei Injektion der lebenden oder abgetöteten Bakterienzellen. Restieren unter den extrahierten Bakterien noch körperlich intakte oder gar lebensfähige, so wird freilich auch unter diesen Umständen Infiltratbildung beobachtet. Es ist festgestellt, daß eine örtliche Reaktion ausbleibt oder äußerst milde verläuft, wenn die extrahierten Zelleiber vor der Injektion noch durch Hitze abgetötet werden (CITRON[4]).

Extraktion durch Autolyse.

In künstlichen Kulturen ist zu beobachten, daß die Bakterienzellen nach mehr oder weniger langer Zeit einer Auflösung unterliegen. Auf diesen Vorgang mußten sich die Gedanken richten, als das Bestreben obwaltete, den Bakterienzellinhalt zu gewinnen. Und da diese Art Auflösung sich unter den natürlichen Bedingungen vollzieht, ohne daß wir ein eingreifendes Mittel anwenden, so glaubte man gerade in den Autolysaten die Protoplasmabestandteile in einer am wenigsten geschädigten Form vor sich zu haben. Daß diese „Autolysate" Antigen enthielten, konnte bald erwiesen werden. Man trennt sie durch Filtration von den zelligen Elementen.

In vielen Fällen läßt sich aber gar nicht bestimmen, ob das Antigen solcher Filtrate autolytischen Vorgängen seinen Ursprung verdankt. Wenn man unter Autolyse einen Vorgang versteht, der eine Selbstverdauung durch Eigenenzym darstellt und selbst die Auflösung einer toten Zelle durch extracelluläre, von außen auf die tote Zelle einwirkende, aber durch die Lebenstätigkeit der Bakterien gleicher Art entstandene Enzyme noch hinzu rechnet, so bleiben immer noch andere Vorgänge in den sich selbst überlassenen Kulturen übrig, die an dem Uebergang von Antigen in das keimfreie Filtrat mit beteiligt sind. Tote Bakterienzellen, die von einer Flüssigkeit, noch dazu wenn sie Salze enthält oder nicht neutral reagiert, umspült sind, geben lösliche Bestandteile schließlich auch ohne Enzymwirkung ab, ein Vorgang, der gern mit Auslaugung bezeichnet wird. Man kann sich vorstellen, daß besonders bei der im Laufe des Wachstums entstehenden stärkeren Alkalinität eine weitgehende Extraktion der toten Zellen erfolgt. Es ist ferner sichergestellt, daß Geißelfäden oder Geißelreste ebenso wie kleinste noch ungelöste Zelltrümmer die Filter passieren.

Treten so schon in Kulturen, die man sich selbst überläßt, Vorgänge ein, die wir im einzelnen noch gar nicht übersehen, so daß eine nähere Charakteristik der keimfreien Kulturfiltrate auf Schwierigkeit stößt, so komplizieren sich die Verhältnisse noch weiterhin, wenn man von festen Nährböden Kulturbelag abhebt und in einer Flüssigkeit zum Zweck der Extraktion suspendiert. Wir müssen hier unterscheiden zwischen dem momentan und im Laufe der Extraktion erfolgenden Effekt: je nach der Bakterienart, nach dem Alter der verwendeten Kultur, nach Salzgehalt des Nährbodens werden in den zur Emulsionierung benutzten Flüssigkeiten, die je nach Salz-, Eiweißgehalt usf. verschieden wirken, plasmolytische Vorgänge geringeren oder stärkeren Grades sich abspielen, die auch zur Zellsprengung führen können. Da es hierbei bei beweglichen Arten auch zum Abwerfen der Geißeln kommt, so erhält man schon durch diese einfache Uebertragung von festen Nährböden auf Flüssigkeiten bei alsbaldiger keimfreier Filtration mehr oder weniger Antigen. Erfahrungsgemäß wird das Filtrat antigenreicher, wenn man die Suspension eine Zeitlang stehen läßt. E. P. Pick, der diese Methode zur Darstellung von Typhus- und Cholerabakterienkoagulinen schon 1902 benutzte, nahm jüngere oder ältere Agarkulturen, deren Aufschwemmungen in physiologischer, 0,8- oder 1-proz. Kochsalzlösung 2—24 Stunden bei Zimmer- oder Bruttemperatur verblieben, um dann filtriert zu werden. Seitdem ist diese Methode vielfach angewandt, noch häu-

figer aber sind ihr andere Methoden zur Verstärkung der Extraktion angegliedert worden, so die Verbindung mit der Schüttelung, mit Erhitzung, mit Verwendung von verschiedenen Chemikalien als Suspensions- und Extraktionsmittel, schließlich begnügte man sich nicht, die Extraktion an den Kulturbakterien direkt vorzunehmen, sondern an den durch mechanische Verfahren aufgeschlossenen Zelleibern. Wegen dieser mannigfachen Modifikationen und Kombinationen, vor allem aber wegen unserer Unkenntnis der bei den einzelnen Methoden obwaltenden inneren Vorgänge ist heute eine völlig zutreffende Einteilung dieser Antigendarstellungsmethoden nicht möglich.

Beispiele von Extraktimmunisierung.

A. Extraktion aus lebenden Bakterien durch Kochsalzlösung oder Wasser bei Brüttemperatur („Autolyse").

CONRADIS Verfahren zur Gewinnung toxischer Stoffe aus Typhus- und Dysenteriekulturen schließt sich an das oben erwähnte PICKsche Verfahren an.

CONRADI[1] züchtete die Bakterien auf schwach alkalischem, 3-proz. Fleischwasseragar (Zusatz von 1 Proz. Tropon), der in große Schalen ausgegossen war, 20 Stunden bei 37°. Abkratzen des Kulturrasens mittels Nickelspatels, Aufsaugen mit Pravaz. Verteilen des Bakterienmaterials auf Zentrifugenröhrchen (1 Teil). Zusatz von 0,85-proz. NaCl-Lösung (2 Teile). Aufbewahren der Gläschen 1 oder höchstens 2 Tage bei 37,5°. Danach Abpipettieren und Zusammengießen der überstehenden Flüssigkeitssäulen, Zusatz von der 5-fachen Menge 0,85-proz. Kochsalzlösung, Filtrieren durch Berkefeld, während der Sterilitätsprüfung aufbewahren im Eisschrank. Danach im Vakuumapparat bei 35° auf $^1/_{10}$—$^1/_{50}$ des Volumens eindampfen. Ueber die tödlichen Dosen dieser Gifte für Kaninchen und Meerschweinchen (Ruhr, Typhus) vgl. die Originalarbeit.

2. Auszüge aus lebenden Choleravibrionen sind dann bei 37° in destilliertem Wasser von M. MAYER, ferner aus Typhusbacillen von BRIEGER & MAYER hergestellt worden.

MAYER schwemmte 4 Agarkulturen Cholera (24-stündig, Virulenz $^1/_5$ bis $^1/_{10}$ Oese) in 20 ccm Aq. dest. auf und ließ die Aufschwemmung 2 Tage bei 37°, vom Pukallfiltrat intravenöse Injektion von 27 ccm innerhalb von 12 Tagen bei Kaninchen. Agglutinationstiter 1:800, bakterizider Wert 0,00008.

3. Schon oben ist erwähnt, daß es für das Freiwerden der Zellbestandteile nicht gleichgültig ist, bei welcher Temperatur man die Extraktion oder Autolyse vor sich gehen läßt.

So berichten BRIEGER & MAYER[2], daß die durch Stehen bei Zimmertemperatur (15°) erhaltenen Aufschwemmungen von Typhusbacillen nur minimale Mengen zerfallener Bakterien enthielten, die meisten waren noch lebend; demgemäß wirkte auch das keimfreie Filtrat so gut wie nicht toxisch, während die bei 37° gehaltenen Aufschwemmungen schon massenhaft zerfallene Bakterienleiber aufwiesen und dem Filtrate toxische Wirkung zukam. (CONRADIS Autolysat: tödliche Dosis für Meerschweinchen 0,2, BRIEGERS Autolysat wurde in der Dosis 1 ccm intraperitoneal von Meerschweinchen gut vertragen.)

Einfache Autolyse. a) Typhus-Wasseraufschwemmungen: 2 zweitägige, lebende Typhusagarkulturen in 10 ccm Aq. dest., 1 Tag bei 4° (Eisschrank); vom Pukallfiltrat (beim Filtrieren wurde mit 1—2 ccm Aq. dest. nachgespült) innerhalb von 7 Tagen 10 ccm intravenös bei Kaninchen: Agglutinationstiter 1:400, bakterizider Titer 0,01.

b) Typhus-Wasseraufschwemmung (wie oben) 24 Stunden bei 37°: 1 ccm Filtrat tötet intravenös Kaninchen. Anfangsdosis für Immunisierung 0,2 ccm. Die Injektionen bewirkten starke Gewichtsabnahme und schließlich den Tod des Tieres (Serum agglutiniert 1:400, bakterizider Titer 0,001).

c) Typhus-Wasseraufschwemmung (wie oben), 6 Stunden bei 15°. Pukallfiltrat intravenös bei Kaninchen (in 5 Tagen 10,5 ccm). Agglutinationstiter 1:1600; bakterizider Titer 0,0005.

Brieger nimmt an, daß ein eigentlicher Zerfall der Bakterienleiber (Autolyse) erst bei höherer Temperatur eintritt, daher die Giftigkeit der 37°-Autolyse.

Kryzanowsky fand, daß die optimale Temperatur für die Gewinnung wirksamer Choleraautolysate die von 37° ist (2 Tage), 18- bis 20-stündige Kulturen lieferten bessere Antigene, als ältere. Schütteln war ohne Einfluß.

Salimbeni züchtete die Choleravibrionen 16—18 Stunden auf Nicolleschem Kartoffelbouillonagar (Vorschrift bei Salimbeni im Handbuch von Kraus-Levaditi, Ergzgsbd. I, S. 71) unter Verwendung von Metallflaschen (nach Nicolle & Allilaire).

Abschaben der Kulturmasse, Versetzen mit kleiner Menge halbgesättigter Kochsalzlösung (0,5 ccm pro 1 g Bakterienmasse), Aufbewahren dieses Breies 10—12 Stunden bei 38°, Ueberführen in Aq. dest. ster. (40 ccm auf 1 g Bakterien). Aufbewahren bei 38° 1 Tag, Zentrifugieren. Von diesem Autolysat tötet $^1/_3$ ccm (entsprechend 8 mg Vibrionen) Meerschweinchen von 200 g nach subkutaner Injektion (in Ausnahmefällen schon 0,1 ccm). Die Lösung ist sehr labil, sie verliert schon nach 2—3 Tagen (Eisschrank, Zimmertemperatur) ihre Toxizität um die Hälfte, bleibt aber dann ziemlich lange auf dieser Stufe wirksam. — Immunisierungsversuch s. Salimbeni.

4. Eine Typhusschutzimpfung mittels Autolysaten ist auch die von H. Vincent geübte: er autolysiert lebende 24-stündige Typhusbacillen bei 37° mit physiologischer NaCl-Lösung, zentrifugiert, der Abguß wird mit Aether geschüttelt (zur Sterilisierung). Er verwendet ein polyvalentes Autolysat (4 Einspritzungen in Pausen von 8—10 Tagen). Dies Antigen soll sich auch ohne Konservierungszusatz gebrauchsfähig halten. Tote Kulturen eignen sich zur Gewinnung brauchbarer Autolysate nicht.

5. Ein Verfahren zur Digestion von Cholera- und Typhusbacillen mittels Dünndarmpreßsaftes hat M. Hahn (b) mitgeteilt. Wir berühren dies Verfahren nur kurz, da nach Hahns eigenen Untersuchungen sich einfache Kochsalzlösung als eine gleichwertige Digestionsflüssigkeit herausstellte; Hahn erhielt nach 2—14 Tage langer Digestion ein keimfreies Filtrat, das in der Dosis von 0,5 bis 1 ccm Meerschweinchen (200 g, subkutan) tötet. Als Antigen war es brauchbar zur Erzeugung von agglutinierenden Seris, die Tiere (Meerschweinchen) erwarben auch eine Widerstandsfähigkeit gegen tödliche Dosen lebender Bakterien. Bei Ziegen und bei Pferden kommt es zur Bildung von Anti-(Endo-)toxinen; 0,025 ccm dieses Serums neutralisierte die tödliche Giftdosis. Die so hergestellten Cholera- und Typhusgifte wirkten ganz ähnlich, sie führten zu einer wechselseitigen Immunisierung (eine untertödliche Typhusgiftdosis schützte gegen die 2—3-fach tödliche Choleragiftmenge), es handelt sich also wohl um ein nichtspezifisches Gift.

6. Mit Hinblick auf die Versuche Hofmeisters und seiner Schüler über Organautolyse versuchten Levy & Pfersdorff aus Milzbrandbacillen Autolysate zu erhalten. Der Belag von Agarplatten wurde abgehoben, mit der gleichen oder $1^1/_2$-fachen Menge destillierten Wassers versetzt und mit Natriumkarbonat schwach, aber deutlich alkalisiert. In luftdicht verschlossenem Gefäß wurde die Emulsion mit Toluol überschichtet und 4—5 Wochen bei 37° gehalten. Tägliches Umschütteln. Der Milzbrandstamm war ein nach Chamberland-Roux asporogen gemachter. Das von Toluol befreite Präparat erwies sich, allerdings in enorm hohen Dosen, auch als giftig für Mäuse.

7. Pyocyaneus. Nach den Versuchen von Gildersleeve ist durch Vorbehandlung von Kaninchen mit autolytischem Pyocyaneusextrakt nur eine geringe Antikörperproduktion und kein Schutz gegen letale Dosen zu erzielen.

8. Antigen durch Pneumokokkenautolyse (in NaCl-Lösung) benutzte Rosenow: eine Immunisierung gegen diese toxische Substanz gelang ihm nicht,

aber eine Erhöhung des opsonischen Index. Avirulente Stämme ließen sich oft nicht autolysieren.

B. Wässerige Extrakte aus toten Bakterienzellen.

BESREDKAS[1,2] Verfahren zur Endotoxingewinnung.

16—18 Stunden alte Agarkulturen von Typhus, Dysenterie (2 Tage alte von Pest) werden mit physiologischer Kochsalzlösung (0,75-proz.) abgeschwemmt, 1 Stunde bei 60° erhitzt und im Vakuum getrocknet. Eine abgewogene Menge (1 g) wird mit Kochsalz in Substanz (auf 1 g trockene Bakterienmasse 0,3 bis 0,45 g NaCl) in einer Achatschale bis zum feinen Pulver zerrieben (etwa 1 Stunde lang). Nun fügt man tropfenweise allmählich, aber ohne das Pistill abzuheben, destilliertes Wasser in der Gesamtmenge von 1—2 ccm hinzu; hierin löst sich das Salz schnell, die Bakterienpaste gibt man in ein Röhrchen oder Kölbchen und fügt soviel Wasser hinzu, als zur Gewinnung der Konzentration der physiologischen NaCl-Lösung nötig ist. Da die Bakterien die Neigung haben auszufallen, so schüttelt man zunächst kräftig mehrere Male durch; nach 2 Tagen zentrifugiert man. Die Flüssigkeit enthält nach BESREDKA flüssiges Endotoxin. Für die Gewinnung des Typhusendotoxins, das hitzebeständig ist — im Gegensatz zu dem labileren Pest- und Ruhrendotoxin — wird die Pastenverdünnung in ein Wasserbad von 60—62° für 2 Stunden gegeben, nach 12-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur haben sich die Bacillen abgesetzt, die überstehende Flüssigkeit enthielt Typhusendotoxin.

Die BESREDKAschen Lösungen aus Typhusbacillen sind für verschiedene Versuchstiere, namentlich bei intraperitonealer oder intravenöser Injektion giftig. 1 g trockene Bacillen + 0,3 g NaCl + 30 ccm Wasser ergibt eine Lösung, deren tödliche Dosis für Meerschweinchen (250 g) und Ratten (50 g) $^1/_8$—$^1/_4$ ccm beträgt. 1 ccm tötet in 3 Stunden (intraperitoneal). Kaninchen (1800 g) starben bei 1—1,5 ccm, intraperitoneal oder intravenös, Mäuse bei 0,05 ccm. Die Lösung verträgt Erhitzen auf 100—120° 1 Stunde, 127° $^1/_2$ Stunde lang.

BESREDKA hat auch zur Extraktion der Typhus- und Pestbacillen normales Pferdeserum verwendet.

Die Vorschrift lautet: 0,15 g trockene Bacillen (s. oben), 8 ccm Serum, 2 ccm physiol. Kochsalzlösung. Es tritt starke Agglutination ein. $1^1/_2$—2 Stunden stehen lassen bei Zimmertemperatur, zentrifugieren: die ausgeschleuderten Bacillen sind nicht oder nur sehr wenig giftig, sie sind als Vaccin brauchbar. Schon 0,025 mg schützte Meerschweinchen, subkutan, gegen intraperitoneale Infektion mit tödlichen Dosen. Dauer der Immunität mehrere Monate. Die überstehende Flüssigkeit nennt er das flüssige Endotoxin (1,5 ccm tötet Meerschweinchen — 300 g — intraperitoneal), bei den verschiedenmaligen Herstellungen schwankt seine Giftigkeit.

C. Abspaltung durch Wärme.

1. Freie Rezeptoren nach M. NEISSER & SHIGA.

a) NEISSER & SHIGA haben nachgewiesen, daß in einer wäßrigen Aufschwemmung von erhitzten Typhusbacillen nach Entfernen der Typhusbacillen durch Filtration freie Rezeptoren vorhanden sind, sie bewiesen das damit, daß dies Filtrat Agglutinine zu binden und als Agglutinogen zu wirken vermochte. Das so gewonnene Serum wirkte nicht nur stark agglutinierend, sondern auch bakterizid.

Methode. Eine 1-tägige Agarkultur wird in 10 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, 1 Stunde lang bei 60° erhitzt und 2 Tage bei 37° gehalten. Danach Filtration durch Reichelkerze.

Beispiele. Typhus; Kaninchen vertrugen intravenös 10 ccm des Filtrats. Nach der 2. Einspritzung Agglutinationstiter 1:5000, nach der dritten 1:20000.

b) Versuche nach der gleichen Methode mit Ruhrbacillen bei Kaninchen s. LÜDKE[2,6], er fand den bakteriziden Wert nur mäßig erhöht (höchstens 1:100), Agglutinationstiter höchstens 1:200.

c) Cholera. Versuche am Kaninchen nahm BERTARELLI[1,2] vor. Der Impfstoff wurde subkutan (1 ccm, 3 ccm, 3 ccm) und bei einem anderen Tier intravenös (2 ccm, 3 ccm) gut vertragen. Mäßiger Anstieg des Agglutinations- und bakteriziden Titers.

d) Versuche am Menschen.

α) SHIGA[1] benutzte die oben angegebene Methode, schwemmte aber die Agarkultur nur mit 5 ccm (anstatt mit 10 ccm) ab.

Versuchsperson 1 hatte vor 12 Jahren Typhus überstanden, das Serum zeigte vor der Injektion keine Antikörper. Erste Injektion 0,05 ccm subkutan untere Brustpartie. Keine Erscheinungen. Nach 5 Tagen 0,25 ccm: sehr geringe Reaktion.

Versuchsperson 2, 0,1 ccm ohne Erscheinungen, nach 12 Tagen 0,5 ccm fast ohne Reaktion.

Effekt: Agglutinationstiter bei 1 nach 8 Tagen 1:640, nach fast 1 Jahr 1:60, bei 2 nach 11 Tagen 1:80, nach 3 Monaten 1:40. Der bakterizide Titer (Methode NEISSER-WECHSBERG) zeigte erheblichen Anstieg und hielt sich bei der 1. Versuchsperson fast ein Jahr lang gleich hoch.

β) Verfasser spritzte bei einem Laboranten B., der beim Pipettieren von Typhusemulsion unvorsichtig gewesen war, 0,5 ccm des Impfstoffes subkutan Unterarm. Schwerste örtliche Reaktion mit erysipelartiger Rötung und Schwellung des ganzen Unterarms. Starke Schwellung und Schmerzempfindlichkeit der Axillardrüsen. Schwere Allgemeinerscheinungen mit Fieber (39,1). Nach $2^1/_2$ Tagen Rückkehr zur Norm. Agglutinationstiter vor der Injektion 1:10. 10 Tage später 1:25. — (1902; nicht publiziert.)

γ) HETSCH & KUTSCHER verwendeten den Impfstoff in der SHIGAschen Modifikation, fügten 0,5 Proz. Phenol hinzu und spritzten subkutan 0,5 ccm, Unterarm. Aeußerst heftige örtliche Reaktion, die nach 2 Tagen ablief. Allgemeinreaktion in 2 Fällen milde, bei einer 3. Person sehr schwer (39,5, Erbrechen, Benommenheit). Agglutinationstiter 10 Tage nach der Injektion geringe Steigerung (im Höchstfall 1:100). Bakterizider Wert nur einmal 1:100, sonst darunter.

δ) Mit dem NEISSER-SHIGAschen Impfstoff (unter geringfügigen Modifikationen) sind weitere Versuche am Menschen von SCLAVO, praktische Impfungen während Typhusepidemien von CASTELLANI, ferner von TRIGLIA und MAZZUOLI ausgeführt worden. Die Erscheinungen waren leicht, in wenigen Fällen mittelschwer.

Für die verschiedene Schwere der mit der Impfung einhergehenden lokalen und allgemeinen Erscheinungen sind die Kulturdifferenzen verantwortlich zu machen, die nicht einheitlich gehandhabte Dosierung sowie die Verschiedenheit der Applikationsstellen, ferner ist die individuelle Empfindlichkeit zu berücksichtigen. Es fehlt vorläufig vor allem die Möglichkeit, den Impfstoff von gleichmäßiger Stärke herzustellen und ihn konstant zu erhalten.

2. Modifikationen des NEISSER-SHIGAschen Verfahrens durch WASSERMANN.

A. WASSERMANN[2] schwemmte 24-stündige Typhusagarkulturen in destilliertem Wasser auf, tötete sie dann 24 Stunden lang bei 60° ab, überließ sie 5 Tage bei 37° der „Autolyse“ und filtrierte keimfrei durch Kerzen. Das Filtrat wurde im Vakuumapparat zur Trockne eingedampft. Das grauweiße Pulver, in Glasröhren eingeschmolzen, hatte nach 3 Monaten noch seine volle Wirksamkeit: nach intravenöser Einverleibung von 5—20 mg bei Kaninchen betrug der bakterizide Titer des Serums nach 8—9 Tagen 5 mg.

STRONG (zitiert bei WASSERMANN) stellte aus Choleravibrionen in gleicher Weise einen Impfstoff her. Bei subkutaner Anwendung traten keine lokalen Entzündungen bei den Tieren auf.

Das WASSERMANNsche Verfahren bietet nach den Ausführungen des Autors den Vorteil, daß der Impfstoff wägbar, also genau dosierbar ist, daß er eine relativ lange Zeit unverändert aufbewahrt werden kann (LÜDKE fand das Dysenterieantigen noch nach 3 Monaten wirksam), und daß wegen des geringen Gehaltes an Protoplasmastoffen die entzündungserregende Wirkung vermindert

ist. Eine Nachprüfung (Typhus, Kaninchen) siehe BERTARELLI[2], für Dysenteriebacillen siehe LÜDKE[1, 3, 6], der die WASSERMANNsche Methode der NEISSER-SHIGAschen vorzieht (höherer Agglutinationstiter bei Kaninchen).

Versuche am Menschen.

a) Typhus. Das WASSERMANNsche Impfpulver wurde von HETSCH & KUTSCHER wie oben geschildert hergestellt und für die Impfung in physiologischer Kochsalzlösung, die mit 0,3 Proz. Phenol versetzt war, gelöst. Die Lösung geht ziemlich schwer vor sich. 1 Impfdosis entsprach dem Trockenrückstand von 6 Normalösen Agarkultur = 0,0017 g Impfpulver. Prüfung auf Sterilität macht sich nötig wegen der Möglichkeit der Verunreinigung während der verschiedenen Manipulationen, z. B. auch während des Eindickens, das 1—1½ Tag beansprucht.

HETSCH & KUTSCHER beobachteten bei subkutaner Injektion dieses Impfstoffes (linke Brustseite) eine sehr milde lokale Reaktion bei sämtlichen sechs Versuchspersonen, Allgemeinerscheinungen zeigten 5 gar nicht, eine Person hatte leichtes Fieber (37,6°).

Effekt: Bakterizider Titer nach einmaliger Injektion bei einem Impfling 1:200, bei drei 1:100, bei zwei 1:50.

b) Cholera. STRONG (s. oben) beobachtete nach Einspritzung des Impfstoffes nur leichte Lokal- und Allgemeinerscheinungen; ebenso BERTARELLI, der in Zwischenpausen von 6 Tagen 0,2, 0,4, 1 ccm und 2 ccm unter die Rückenhaut spritzte. Es trat mäßige Steigerung des Agglutinations- (1:40, d. i. eine 20-fache Steigerung gegenüber dem Normalen) und bakteriziden Titers (1:20 im Plattenversuch, d. i. eine 4-fache Steigerung gegenüber dem normalen Serum) ein. (Die Ausgangskultur BERTARELLIS hatte eine sehr geringe Virulenz: tödliche Dosis für Meerschweinchen, intraperitoneal, 5 Normalösen.) Nach 6 Monaten agglutinierte das Serum noch 1:20.

3. KRUSES Dysenteriegift.

Die nach einem Tag auf Agar gewachsenen Bakterien werden in Kochsalzlösung aufgeschwemmt (1 Kultur auf 10 ccm 0,8-proz. NaCl-Lösung), 2 Stunden lang bei 60° gehalten und abzentrifugiert. Die obenstehende Lösung wirkt in einer Dosis, die 1 mg feuchter Bacillen entspricht, tödlich (Kaninchen, intravenös). Subkutan ist die Wirkung ähnlich, doch unsicher. Erhitzen auf 80—100° macht das Gift fast wirkungslos. Meerschweinchen sterben erst (intraperitoneal) an der 40-fachen Dosis unter Kollaps (vom gekochten Gift ist die doppelte Menge nötig). Gegen das Gift (Endotoxin konnte KRUSE ein Antitoxin gewinnen.

Nach SELTER gelingt überhaupt die Immunisierung von Kaninchen mit dem Extrakt aus Dysenteriebacillen viel schwerer als die mit abgetöteten oder lebenden Kulturen. Nach demselben Autor wirkt dies bei 60° während 2 Stunden gewonnene Gift stärker als beispielsweise das nach CONRADI oder NEISSER-SHIGA hergestellte Extrakt.

4. MARAGLIANOS Hitzeextrakt aus Tuberkelbacillen.

Einen wässerigen Auszug aus Tuberkelbacillen stellt MARAGLIANO her, der die in kräftiger Entwickelung begriffenen Kulturen auf einem Filter sammelt, mit einer dem Volumen der Kulturflüssigkeit entsprechenden Menge destillierten Wassers aufschwemmt und 48 Stunden lang auf dem Wasserbad bei 90—95° digeriert. Durch zeitweisen Zusatz von Wasser erhält er die Aufschwemmung auf dem ursprünglichen Volumen. Schließlich wird die Flüssigkeit auf $^1/_{10}$ eingeengt und filtriert (= wäßriges Tuberkulin). Das Präparat soll nach MARAGLIANO beim tuberkulösen Organismus die gleiche Wirkung wie das KOCHsche Tuberkulin haben, erzeugt aber keine merkliche lokale Reaktion. Tödliche Dosis für Meerschweinchen, subkutan 1 ccm auf 100 g Körpergewicht; für Kaninchen, intravenös 0,5 ccm auf 100 g Körpergewicht. MARAGLIANO wollte mit diesem Verfahren die starken Mengen Glyzerin vermeiden, die das KOCHsche Präparat enthält, die die Giftwirkung des Tuberkulins in nicht spezifischer Weise erhöhen und die Anwendung größerer Mengen beim gesunden Organismus hindern. Auch hält er nach vergleichenden Versuchen Wasser für ein geeigneteres Extraktionsmittel als Glyzerin. Der wässerige Extrakt verliert schon

nach 8—10 Tagen bedeutend an Wirksamkeit, Zusatz von 5 Proz. Glyzerin konserviert.

MARAGLIANOS Präparat ist von ihm zur Pferdeimmunisierung zum Zweck der Serumgewinnung benutzt worden.

Die Tuberkelbacillenextrakte von KOCH und MARAGLIANO weichen insofern von den übrigen durch Extraktion gewonnenen Antigenen wesentlich ab, als sie hohen Hitzegraden während der Herstellung ausgesetzt worden sind. Dadurch tritt selbstverständlich eine weitgehende Modifizierung der Giftstoffe ein, die sich auch auf die Antigennatur erstrecken muß. Um diese Denaturierung einzuschränken und zu vermeiden, ging LANDMANN systematisch vor, s. S. 81.

D. Schüttelextrakte.

1. Auf Veranlassung von L. BRIEGER hat M. MAYER versucht, aus lebenden Choleravibrionen durch Schütteln spezifisch wirkende Substanzen zu gewinnen.

4 Agarröhrchen 1-tägiger Cholerakultur (Virulenz $^1/_{10}$—$^1/_5$ Oese) wurden in 20 ccm destillierten Wassers aufgeschwemmt, die Aufschwemmung wurde in kleinen Kölbchen, die vor Licht durch Umhüllung mit schwarzem Papier geschützt waren, 6 und 48 Stunden lang im Schüttelapparat bei 15° geschüttelt. Dann Filtration durch Pukall. Mit dem Extrakt 48 Stunden konnte in 4 Wochen (intravenös innerhalb von 22 Tagen im ganzen 30 ccm) der bakterizide Serumtiter 0,0001, mit dem Extrakt 6 Stunden in 4 Wochen der bakterizide Titer 0,001 erreicht werden. Die Seren agglutinierten höchstens 1:200.

2. Die gleiche Schüttelungsmethode wandten BRIEGER & MAYER für Typhus an.

Beispiel: Typhus-Wasseraufschwemmung (s. S. 68) wird 24 Stunden bei 15° geschüttelt. Pukallfiltrat bei Kaninchen intravenös in 6 Tagen im ganzen 10,5 ccm. Agglutinationstiter 1:1600. Bakterizider Titer 0,0001. Auch kleine Dosen reichten schon bei einmaliger Injektion aus, die Titer beträchtlich zu erhöhen (0,005 Filtrat entsprechend $^1/_{100}$—$^1/_{200}$ Oese Kultur, intravenös Kaninchen. Agglutinationstiter 1:160, bakterizider Titer 0,004).

Versuche am Menschen mit dem Typhusimpfstoff Brieger-Mayer.

a) BASSENGE & MAYER[2], 9 Versuchspersonen. Subkutane Injektion von Extrakt, der $^1/_5$ Agarkultur entsprach, veranlaßte nur geringe Antikörperbildung (Bakteriolyse im PFEIFFERschen Versuch), eine Wiederholung machte sich nötig. Um mit einer einzigen Injektion auszukommen, konzentrierten die Autoren den Impfstoff im Vakuum so, daß 2 ccm die wirksamen Substanzen einer ganzen Kultur enthielt. Die lokalen und allgemeinen Erscheinungen hielten sich in mäßigen Grenzen. Effekt: Nach 14 Tagen und mehr stieg der bakterizide Titer in der Regel bis zu 0,001 an (0,001 ccm des Serums schützte Meerschweinchen von 200 g gegen die 20-fache tödliche Dosis, intraperitoneale Einführung). In 2 Fällen genügten hierzu 0,0005 und in einem nur 0,0001 ccm. Die Persistenz der Bakteriolysine war eine recht erhebliche (nach 6 Monaten in dem untersuchten Falle 0,01 ccm). Der Versuch, noch höhere Titer mit einem multivalenten Impfstoff zu erhalten, scheiterte, die Verfasser bevorzugen einen univalenten, hergestellt aus einer Kultur von der Virulenz ca. $^1/_{30}$ Oese. — Der Impfstoff vertrug den Zusatz von 0,3—0,5 Proz. Phenol.

b) BISCHOFF. 24 Versuchspersonen. Der Impfstoff wurde von BASSENGE & MAYER bezogen. Injektionsdosis 2 ccm von dem im Vakuum eingeengten Präparat oder 5 ccm von dem ursprünglichen Extrakt, entsprechend je 1 Agarkultur. Injektion subkutan unterhalb des Schlüsselbeins. Die lokalen und allgemeinen Erscheinungen waren individuell sehr verschieden. Die ersteren waren wesentlich geringer als nach Injektion von Bacillenaufschwemmungen, die Allgemeinerscheinungen (Störung des Allgemeinbefindens, Steigerung der Körpertemperatur, Einwirkung auf den Verdauungstraktus) verliefen verhältnismäßig schnell, Maximum nach 6—8 Stunden, sie waren ebenfalls weniger heftig als die bei der PFEIFFER-KOLLEschen Impfung. Effekt: Der bakterizide Titer lag nie über 200—500, meist war er erheblich niedriger, bei einigen Personen erreichte er noch nicht 50. Nach drei Monaten fast vollständiger Rückgang des Titers. Bei einem Vergleich der Methoden PFEIFFER-KOLLE sowie BRIEGER-MAYER betont BISCHOFF die bequemere und billigere Herstellungsweise des

Impfstoffs PFEIFFER-KOLLE, die Unsicherheit des Sterilisationsverfahrens bei dem Impfstoff BRIEGER-MAYER (Filtration). Beide Impfstoffe lassen die Gleichmäßigkeit der örtlichen und allgemeinen Reaktionen vermissen, vorläufig ist es noch nicht gelungen, den BRIEGERschen Impfstoff haltbar zu machen.

Vergleichende Untersuchungen über die Methode KONRADIS („Autolyse") und BRIEGER (Schüttelextrakte) mit Schweinepestbacillen nahm F. SCHMIDT vor.

Er verglich auch den Einfluß dieser Maßnahmen auf die Lebensfähigkeit der Bacillen und stellte fest, daß bei dem 24-stündigen Schütteln (Zimmertemperatur) der mit destilliertem Wasser (5 ccm) abgeschwemmten Kultur die Keimzahl annähernd die gleiche blieb, während bei 24-stündigem Verweilen der mit 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmten Agarkulturmasse im Brutschrank die Keime sich um 50 Proz. verminderten.

Die filtrierten Autolysate wirkten für Kaninchen, Meerschweinchen und Ziegen toxisch. (Ziegen können schon bei intravenöser Verabreichung von 0,5 ccm zugrunde gehen.) Bei ersteren beiden Tierarten konnte Immunität durch Behandlung mit solchen Autolysaten herbeigeführt werden. Weniger giftig verhielt sich das Filtrat des Schüttelextraktes, Meerschweinchen und Ferkel vertrugen bis zu 50 und 20 ccm. Schützende Antikörper waren frühestens am 7. Tage nach der Injektion nachzuweisen.

3. In Anlehnung an die BRIEGERsche Methode sind zahlreiche andere Schüttelextrakte hergestellt worden, es handelt sich nur um Variation der Züchtungsdauer, der Quantitäten, des Aufschwemmungsmediums und der schließlichen Befreiung von lebenden Keimen oder Zellresten.

Beispiele:

a) Wässerige und seröse Schüttelextrakte nach WASSERMANN-CITRON („künstliches Aggressin").

24-stündige Agarkulturen auf Kolleschalen werden mit destilliertem Wasser abgeschwemmt: man gießt 3—4 ccm auf den Bakterienrasen und schabt mit ausgeglühtem Platindraht den Belag ab, gibt noch 7—8 ccm Flüssigkeit zum Wegspülen der noch anhaftenden Kulturmassen hinzu. Die Suspension wird in Erlenmeyerkolben aus schwarzem Glas oder in braune Flaschen übertragen und bei Zimmertemperatur 1—2 Tage ununterbrochen im Schüttelapparat gehalten. Zusatz von 0,5 Proz. Phenol (1 ccm 5-proz. Phenol auf 10 ccm Flüssigkeit), man zentrifugiert scharf bis die obenstehende Flüssigkeit bakterienfrei ist und pipettiert ab. Das Extrakt wird 3 Stunden auf 44° erhitzt und auf Sterilität geprüft.

Nach Versuchen bei Schweineseuche, Hühnercholera usf. wirken besser als wäßrige die serösen Extrakte. Zu ihrer Herstellung verfährt man genau wie es oben geschildert ist, verwendet aber zum Suspendieren der Bakterienmassen nicht destilliertes Wasser, sondern Serum. WASSERMANN & CITRON empfehlen frisches normales Kaninchenserum, bei der Immunisierung von Tauben benutzten CITRON & PÜTZ Taubenserum (homologes Serumextrakt).

Man erhält ein noch wirksameres Extrakt, wenn man zum Abschwemmen einer Kolleschale nur 5 ccm Suspensionsflüssigkeit verwendet, wie das CITRON & PÜTZ bei Immunisierung gegen Hühnercholera taten.

Für die Immunisierung gegen Schweineseuche und Hühnercholera waren nach CITRON, ferner CITRON & PÜTZ am geeignetsten die homologen Serumextrakte, in zweiter Linie waren die heterologen Serumextrakte, in dritter Linie die wäßrigen wirksam. Die letzteren zeigten mehrfach eine stärkere Giftwirkung (Hühnercholeraextrakt bei Kaninchen) als die vorher genannten, so daß häufiger Impfverluste eintraten.

Beispiel. Aktive Immunisierung mit Schweineseuchebacillen-Extrakt. Kaninchen.

19. Juni 1. Injektion 2,5 ccm seröser homologer Schweineseucheextrakt subkutan
9. Juli 2. „ 2,0 „ „ „ „ „
12. „ 3. „ 4,0 „ „ „ „ „
24. „ 1. Infektion $^1/_{10}$ Oese Schweineseuchekultur subkutan
22. Sept. 2. „ 1 „ „ intravenös

Kontrollkaninchen stirbt nach Injektion von $^1/_{10\,000}$ Oese subkutan in 24 Stunden.

Immunisierungsversuche mit Schüttelextrakten nach WASSERMANN & CITRON sind angegeben bei 1. WASSERMANN & CITRON: Schweineseuche, Typhus (Meerschweinchen), 2. CITRON[1]: Hogcholera (Kaninchen), 3. CITRON[2]: Schweineseuche (Kaninchen, Meerschweinchen), 4. CITRON[4]: Hogcholera (Meerschweinchen, Kaninchen), 5. CITRON & PÜTZ: Hühnercholera (Kaninchen, Tauben), 6. SCHMIDT, F., Schweinepest, Wildseuche (Kaninchen).

Schüttelextrakte aus Meningokokken fertigten ferner KOLLE & WASSERMANN[1, 2], indem sie 24-stündige Meningokokkenkulturen auf KOLLEschen Schalen mit 10 ccm destillierten Wassers abschwemmten und 4—5 Tage im Schüttelapparat schüttelten. Danach Zentrifugieren, 0,5 Proz. Karbol. Beim Pferd wurde dieses Extrakt subkutan verabreicht, es traten sterile Abszesse und sehr ausgebreitete, schmerzhafte Infiltrationen der Haut auf, wodurch das Immunisierungsverfahren sehr aufgehalten wurde.

Polyvalentes keimfreies Kälberruhr-Bacillenextrakt (L. W. GANS, Frankfurt a. M.). Den tragenden Muttertieren werden 3—4 Wochen vor dem Kalben 10 ccm des Extraktes am Halse subkutan, nach 8—10 Tagen die doppelte Menge injiziert. Das mit 0,5 Proz. Phenol versetzte Extrakt hält sich im Dunkeln und Kühlen mehrere Monate. Ueber günstige Resultate berichtet FEHRMANN. v. SANDE empfiehlt die erste Impfung mit 10 ccm des Bacillenextraktes 6 Wochen vor dem Abkalben vorzunehmen und nach 10 Tagen eine zweite mit 20 ccm folgen zu lassen (subkutan), in dem letzten Monat der Tragezeit darf eine Impfung wegen Gefahr von Abort und Exitus nicht vorgenommen werden. Nach F. M. SCHMIDT ist ein Nutzen des Impfens von Muttertieren mit Kälberruhr-Bacillenextrakt bisher nicht erwiesen, da bisher die nötigen Kontrollen nicht angewandt wurden.

b) SOBERNHEIM & SELIGMANN nehmen auf 1 Kolleschale Kultur (B. enteritidis) 15 ccm Kochsalzlösung, hierzu 0,5 Proz. Karbolsäure, schütteln 48 Stunden und zentrifugieren bis zum Klarwerden.

E. Extraktion durch chemische Mittel.

1. Ammonsulfat. Natriumsulfat.

a) BRIEGERS[1] Methode zur Darstellung von Typhus-Agglutinogenen (Aussalzungsverfahren, verbunden mit Autolyse): Reinstes kristallinisches Ammonsulfat in Substanz, das seiner sauren Reaktion wegen als solches zur Extraktion von Bakterien unbrauchbar ist, wird durch tropfenweisen Zusatz einer sehr stark verdünnten Lösung von Ammoniumbikarbonat und ein wenig Ammoniumkarbonat unter Schütteln bis zur schwachen aber deutlichen Alkalinität abgestumpft (leichter Ammoniakgeruch). Zugabe von Typhusbacillen (Oberflächenbelag von 3—4 Tage alten Agarkulturen). Kräftiges Durchschütteln, wobei der Ammoniakgeruch verschwindet. Ein Teil des Ammoniumsulfates muß ungelöst bleiben. Man läßt 1—4 Tage im Dunkeln und Kühlen stehen. Abfiltrieren, Salzteilchen sind fernzuhalten. Der Bakterienniederschlag wird zwischen Fließpapier gut ausgepreßt und in Wasser gegeben, dem einige Tropfen sehr verdünnter Natronlauge zugesetzt werden. Schütteln im Schüttelapparat $^1/_2$ Stunde, dabei muß die Reaktion schwach alkalisch bleiben, etwa auftretende Säuerung, die das Agglutinogen zerstört, ist sofort durch Natronlauge zu beseitigen. Abzentrifugieren, zweimalige Filtration durch Pukallfilter. In dem Zentrifugat, das noch eine weitere Ausbeute zuläßt, befinden sich noch lebende Typhusbacillen, ein Zeichen, wie schonend das Verfahren ist. Mit dem Filtrat wurden von SCHÜTZE (siehe BRIEGER & SCHÜTZE) Meerschweinchen und Kaninchen geimpft. Auch die subkutane Applikation wurde vertragen. Gift-

wirkung fehlte. Meerschweinchen erhielten subkutan an aufeinanderfolgenden Tagen 5, 5, 5, 4 ccm. Kaninchen vertrugen Anfangsdosen von 6 ccm intravenös, insgesamt bis zu 56—83 ccm. Die Agglutinationswerte hielten sich in mäßigen Grenzen (höchster Wert bei einem Kaninchen, das insgesamt 83 ccm erhalten, 1:1200). Das Serum der Kaninchen wirkte auch präzipitierend beim Zusammenbringen mit der zur Injektion benutzten Extraktionsflüssigkeit. Hingegen fehlte dem Serum der so vorbehandelten Kaninchen eine stärkere bakterizide Wirkung: 0,05 und 0,01 ccm vermochte nicht 250-g-Meerschweinchen gegen 1 Oese Typhuskultur (d. i. die 5-fache letale Dosis) zu schützen.

Wie erwähnt, genügte das 4-tägige Aufbewahren in dem konzentrierten alkalischen Ammoniumsulfat nicht, um eine vollständige Abgabe der spezifischen Stoffe herbeizuführen, es wurde daher die Aufbewahrungstemperatur von 37° gewählt und die Zeit verlängert (8—10 Wochen). Der auf den gehärteten Filtern verbleibende Bakterienniederschlag wurde in 20—30 ccm destillierten Wassers gegeben, das mit sehr verdünnter Sodalösung gerade sichtbar alkalisiert wurde. Schüttelapparat 1—2 Stunden. Aufbewahren bei 37°, bis vollständige „Autolyse" eingetreten (meist nach 3 Tagen). Vom 2. Tage ab zentrifugierten Brieger & Mayer noch weitere 3 Tage lang täglich eine halbe Stunde, um die Bakterienzellreste zu entfernen und setzten die Lösung vorsichtig Chloroformdämpfen aus. Sowohl das filtrierte als unfiltrierte Extrakt rief subkutan einige Male Infiltration hervor. Zur Immunisierung von Kaninchen war die geeignete Anfangsdosis 0,2—0,3, die täglich ohne Schädigung verdoppelt werden konnte. Meerschweinchen vertrugen intraperitoneal 2 ccm. Die Verabreichung von im ganzen 20—30 ccm hatte beträchtliche Erhöhung des Agglutinationstiters zur Folge, am höchsten war er nach Injektion der lediglich durch Zentrifugieren von Zellresten befreiten und chloroformierten Lösung (nach 10-tägiger Behandlung z. B. 1:8000), hingegen waren die Agglutinogene bei Filtration durch Pukall und ebenso beim Dialysieren (12 Stunden gegen Aqua dest.) beträchtlich abgeschwächt. Schützende Eigenschaften wies auch das hochagglutinierende Serum nicht auf, ebensowenig präzipitierende.

Diese von Brieger & Mayer gehandhabte Methode wurde von M. Mayer[1] benutzt, um spezifische Substanzen auch aus Choleravibrionen zu gewinnen. Im Gegensatz zu der spontanen Säuerung, die bei Verwendung von Typhusbacillen im Ammonsulfat eintrat und ein Nachalkalisieren nötig machte, blieb hierbei die Reaktion alkalisch, ebenso — in den meisten Fällen — nach Uebertragen in das destillierte Wasser. Als Ausgangsmaterial dienten 1 Tag alte Cholerakulturen in 7—10 Kolleschalen, Virulenz $^1/_{10}$—$^1/_5$ Oese. In dem Ammoniumsulfat verblieben die Bakterien 8 Tage. Autolyse bei 37° 3 Tage. Im übrigen vgl. Brieger & Mayer[1]. Das Extrakt zeigte keine auffallend toxische Wirkung und wurde in ziemlich rascher Injektionsfolge vertragen. Der bakterizide Titer bei Kaninchen stieg bis zu 0,00001 ccm, der Agglutinationstiter blieb verhältnismäßig niedrig. Bei Verwendung geringerer Bakterienmengen (4 Agarröhrchenkulturen), 2-tägigem Verweilen in Ammonsulfat und 2-tägiger Autolyse bei 37° stieg der bakterizide Titer bei einem Kaninchen nach Einverleibung von insgesamt 19 ccm (innerhalb von 15 Tagen) auf 1:1000 (Agglutinationstiter 1:80).

b) Extraktion durch Natriumsulfat (20-proz. Lösung, einige Stunden bei 37°, danach Zentrifugieren) wandte bei Choleravibrionen Brunner an, ein solches Antigen soll hitzebeständig (84°) sein, es passiert Tonfilter nicht.

S. Rowland bediente sich des Natriumsulfats (anhydrosum), um aus Pestbacillen, die vorher mit Chloroform behandelt waren, nach feiner Zerreibung der Mischung, wiederholtem Einfrieren und Auftauen (bei 37°), Zugabe von Wasser bis zur Gewinnung einer gesättigten Lösung ein reichlich Nukleoprotein enthaltendes Antigen zu gewinnen, das zur Immunisierung von Ratten gegen lebende Pestbacillen in einem größeren Prozentsatz von Fällen sich bewährte.

2. Extraktion durch Alkalien und Säuren.

a) Kalilauge und Natronlauge.

1. Von allen bisher bekannt gewordenen Verfahren dieser Gruppe hat das von Lustig & Galeotti empfohlene die größte praktische

Bedeutung gewonnen. Es folgt dem NENCKI-BUCHNERschen Verfahren der Herstellung von Mykoprotein bzw. Alkaliprotein. Da dieser Immunisierungsmethode in diesem Band ein besonderer Beitrag gewidmet ist, so kann hier auf die Schilderung verzichtet werden.

2. R. KOCH[1] hat längere Zeit versucht, aus Tuberkelbacillen durch Extraktion mit $^1/_{10}$ Normalnatronlauge eine immunisierende Substanz zu gewinnen: er verteilte die Tuberkelbacillen in der Lauge möglichst gleichmäßig, ließ 3 Tage bei Zimmertemperatur unter öfterem Umrühren stehen, filtrierte schließlich die über den Kulturmassen stehende Flüssigkeit durch Fließpapier und neutralisierte. Dies Präparat TA. enthielt noch ziemlich viele abgetötete Tuberkelbacillen (die Bacillen starben nach 12—15 Stunden langer Berührung mit der Lauge ab). Wirkung: wie Tuberkulin, die Reaktion ist aber von längerer Dauer, die Erfolge waren beständiger, „es kam weniger oft und später zu Rezidiven“. Bei etwas größeren Dosen verursachte TA. sterile Abszesse, weshalb K. die Flüssigkeit durch Tonzellen filtrierte; das Filtrat erzeugte keine Abszesse, aber war in seiner Wirkung dem Tuberkulin nicht mehr überlegen und auch nur im frischen Zustande brauchbar. Die Erfahrungen mit dem TA., nach denen eine Immunisierung durch subkutane Einspritzungen kleiner Dosen toter Tuberkelbacillen sich als nicht wirksam gegen die größeren, Abszeß verursachenden Dosen erwies, führten übrigens KOCH dazu, die Tuberkelbacillen mechanisch zu zertrümmern, um sie so resorbierbar zu machen.

3. ARONSON[1] gewann durch $^1/_2$-stündiges Kochen von 10 g entwachster Tuberkelbacillen mit 200 ccm $^1/_{20}$ Normalnatronlauge im Autoklaven bei ca. 130° und Filtration durch Papierfilter ein Gift, für das Meerschweinchen sehr verschiedene Empfänglichkeit zeigten, einzelne gingen schon nach 0,01 ccm (subkutan) ein, andere konnten bei allmählicher Steigerung der Dosen bis zu einem gewissen Grade gegen das Gift immunisiert werden.

4. Hier gehören auch her die Extraktionen aus Cholerakulturen von SCHURUPOW. (Zunächst Anwendung von Laugen, dann Fällung mittels Säuren, Waschen mit dest. Wasser, Zentrifugieren, Trocknen über Schwefelsäure im Vakuum; unvollständig veröffentlicht.) Ferner von KRAWKOW (Behandlung von Choleravibrionen mit Alkalilauge und Kupferacetat), dies Präparat bedingt bei Versuchstieren Sinken der Körpertemperatur sowie Cyanose, Krämpfe, Durchfall (Meerschweinchen und Kaninchen).

b) Soda. Vielfach wird Sodalösung zur Extraktion benutzt, man wählt in der Regel die $n/_{10}$ Lösung.

Beispiel: R. KRAUS & ST. BÄCHER schwemmen Agarflaschenkulturen von Meningokokken nach 24—48 Stunden langer Züchtung mit 10 ccm $n/_{10}$ Sodalösung ab, versetzen die Aufschwemmung mit 0,5-proz. Karbolsäure oder Toluol und lassen bei niedriger Temperatur 1 Tag lang stehen. Danach Filtration (Papier) oder scharfes Zentrifugieren. Das so gewonnene Gift wirkt (peritoneal Meerschweinchen, Mäuse) besser als das mit destilliertem Wasser extrahierte.

Aehnlich ist das Verfahren von SALIMBENI zur Extraktion von Choleragift (Abschwemmen von 18-stünd. Agarkulturen mit 0,25 Proz. Kochsalz + 0,1-proz. Soda, dann Aufbewahrung 1 Tag bei 37°, schließlich 1 Stunde 60°, nach 6—8 Tagen Zimmertemperatur Zentrifugieren).

Hierher gehört auch das von TATSUSABURO YABÉ (1900) hergestellte Tuberkulobakterizidin. Er behandelte Tuberkelbacillen zunächst in der Kälte mit 0,5—1-proz. Sodalösung bis zur Erschöpfung (das Gelöste nannte er Tuberculo-Mykoprotein), die erschöpften Bacillen extrahierte er sodann mehrere Tage mit SCHWEITZERs Reagens (einer Auflösung von frisch bereitetem Kupferoxydhydrat in Ammoniak). Das Extrakt Tuberkulobakterizidin soll „hervorragende immunisierende Eigenschaften“ besitzen. RUPPEL[1] hält dies Präparat für identisch mit der von ihm schon 1898 aus Tuberkelbacillen extrahierten Tuberkulinsäure (einem Bestandteil von T.O.), die die spezifischen Eigenschaften des KOCHschen Tuberkulins in erhöhtem Maße besitzt. RUPPEL erwähnt auch, daß man durch Extraktion mit Ammoniak annähernd dieselben Mengen löslicher Stoffe aus den Tuberkelbacillen erhalten kann, wie mit SCHWEITZERS Reagens.

c) Antiformin. UHLENHUTH & HÄNDEL (s. UHLENHUTH[1]), ferner UHLENHUTH-XYLANDER haben versucht, das Antiformin auch in die Immunisierungstechnik einzuführen: stellt man Antiforminbakterienextrakte her, so bleiben die Antigene unter bestimmten Be-

dingungen, die in extenso noch nicht publiziert sind, erhalten. Es erweist sich nötig, im richtigen Moment mit Schwefelsäure zu neutralisieren und Natriumsulfit zuzusetzen. Es gelang z. B. diesen Autoren, einem Kaninchen Antiforminextrakt von 2 Ruhrkulturen (Dos. let. $^1/_{20}$ Oese abgetötet, 24 Stunden) ohne Schaden einzuverleiben, der Agglutinationstiter stieg auf 1:1000, das Serum enthielt außerdem Antitoxine. Auch die Injektion eines Typhusantiforminextraktes lieferte wirksame Sera.

Tsuzuki löste je 1 Agarkultur von Cholera-, Typhus- oder Dysenteriebacillen in 2 ccm 2-proz. Antiformins, nach 20 Minuten intravenöse Injektion bei Kaninchen. (Kaninchen vertragen von dem nicht neutralisierten Präparat, das T. ausschließlich benutzte, 2 ccm der 2-proz. Lösung.) Es konnten in mehreren Fällen recht hohe Agglutinationswerte bei Anwendung der Fornetschen Methode namentlich nach dreimaldrei Impfungen erhalten werden (Cholera 1:30000, Typhus, Dysenterie 1:10000): die Tierverluste waren aber sehr zahlreich.

Uhlenhuth[2] berichtet über ein aus Hühnerspirochätenaufschwemmung durch Zusatz von Antiformin gewonnenes Antigen. Hingegen ergaben die Versuche der Immunisierung mit Antiformin-Schweinepestvirus sehr unsichere Resultate.

Bei der Verwendung von Antiformin zur Gewinnung von Antigenen macht es sich, wie erwähnt, nötig, vor der Injektion die neutrale Reaktion herzustellen und das freie Chlor zu binden. Geringe Mengen nicht neutralisierten Antiformins vertragen zwar die Versuchstiere. Sind diesen Lösungen aber giftige Produkte der Bakterienauflösung beigemengt, so scheint das neutralisierte Antiformin besser vertragen zu werden, als das Rohantiformin. Es sei hier angefügt, daß nach Tsuzuki Kaninchen 2-proz. reine Antiforminlösungen intravenös auch an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen (0,5, 0,75, 1, 2 ccm) vertrugen, Meerschweinchen subkutan 0,1, 0,15, 0,25, 0,5, ebenso Mäuse, während bei intraperitonealer Injektion Meerschweinchen und Mäuse an Peritonitis eingingen, wohl aber wurden 1-proz. Lösungen (0,1—0,5) von diesen Tieren sowohl intraperitoneal als subkutan vertragen.

Eine bessere Auflösung der Bakterien durch Antiformin erhält man, wenn man Brutschrankwärme benutzt. Inwieweit damit eine Schädigung des Antigens erfolgt, ist systematisch noch nicht untersucht worden. In orientierenden Versuchen fand Tsuzuki, daß selbst ein $1^1/_2$-stündiges Halten von Dysenteriebacillen in 2-proz. Antiformin bei 37°, ein 1-stündiges von Cholera und Typhus unter den gleichen Bedingungen das Antigen nicht vernichtet, wenigstens nicht das Agglutinogen. Irgendein Vorteil der zu Agglutinogenen benutzten Antiforminantigene ist aber nicht ersichtlich.

d) Seifen. Noguchi gab 0,1—1 ccm einer dicken Tuberkelbacillenemulsion (Typ. bovinus) in $n/_{200}$ Natriumoleat (Natr. oleinicum), ließ 1 Tag bei 37° stehen und konnte in einigen Fällen mit diesem Impfstoff eine Widerstandsfähigkeit gegen tödliche Dosen lebender Bacillen erreichen. Ammoniumoleat (1:100) ist auch zur Abtötung der Tuberkelbacillen nach Noguchi geeignet, auch diese Antigene scheinen eine Widerstandsfähigkeit gegen lebende Kultur herbeizuführen. Es fehlt die nähere Beschreibung der Antigengewinnung.

Unabhängig von Noguchi hat gleichzeitig Zeuner das ölsaure Natrium zur Antigengewinnung bei Tuberkelbacillen benutzt: 50 Nor-

malösen von 6 Wochen alten Glyzerinagarkulturen wurden in 50 ccm einer Lösung von 1 Teil Natrium oleïnicum in 60 Teilen destillierten Wassers 48 Stunden lang im BRIEGER-MAYERschen Schüttelapparat bei 37° geschüttelt, darnach 1 Stunde im Wasserbad auf 72° erhitzt. $^1/_2$ Stunde lang zentrifugieren (Tourenzahl 2000), die abgegossene Flüssigkeit wird durch Kieselgurfilter filtriert. Das Filtrat ist im Eisschrank haltbar (Prosperol oder Tebesapin Schering).

ZEUNER hält namentlich die einstündige Erhitzung der flüssigen Oelseife auf etwa 72° für sehr wichtig für die Extraktion und Entgiftung: eine subkutane Injektion hat dann nicht Kachexien oder Eiterungen usf. zur Folge, wie z. B. das von ARONSON aus den Bacillenleibern bei 130° mit verdünnter Natronlauge extrahierte Gift. (ZEUNERS Patentschrift Nr. 213692, Klasse 30h, Gruppe 6; Ausdehnung des Verfahrens auf andere Bakterienarten: Chem. Fabrik a. A. vorm. SCHERING, Patentschrift 238388.)

BROLLS Versuche mit einem ähnlichen Präparat bei Meerschweinchen und Kälbern lassen die Möglichkeit der Resistenzerhöhung erkennen, Meerschweinchen waren allerdings bei subkutaner Anwendung sehr empfindlich (sterile Abszesse und bei der Mehrzahl Exitus). BROLL schüttelte eine Emulsion von 2 g virulenter Rindertuberkelbacillen (der Stamm tötete Meerschweinchen nach ca. 6 Wochen) in 100 ccm Oelseifenlösung (1 g Natr. olein. : 60 Aqua dest.) 6 Tage lang bei 37° im Schüttelapparat, erwärmte dann eine Stunde lang im Wasserbad bei 70° und schüttelte nochmals 3 Tage. Die Bacillen sind nach dieser Behandlung tot (Meerschweinchenkontrolle). Das mikroskopische Präparat dieses Impfstoffes zeigte noch zahlreiche säurefeste Bakterien, daneben andere, die die Säurefestigkeit verloren hatten oder in Körnchen zerfallen waren.

Zur Vermeidung der Schwellungen und Abszesse an den Injektionsstellen wurde die Konzentration der Seifenlösung vermindert. BROLL hält diese Methode der Immunisierung schon jetzt für wirkungsvoller als die KLIMMERsche, weitere Versuche an Kälbern (intravenös ausgewaschene verseifte [$^1/_4$—$^1/_2$ g] Bacillen, gleichzeitig subkutan Seifenbacillenemulsion 10 ccm) sind im Gange.

MARXERS[2] Präparat I. 1 g Tuberkelbacillen + 50,0 2-proz. Natrium oleïnicum wurden 8 Tage bei 37° geschüttelt.

Präparat II. Mengenverhältnis wie oben, 4 Tage bei 37° schütteln, erhitzen auf 70—72° 1 Stunde, abermals 4 Tage schütteln. Als Antigen bei Impfung von Meerschweinchen bewährten sich die gleichzeitig erhitzten Oelseifebacillen besser als die nur geschüttelten. Impfdosen 2—10 mg subkutan. Aus MARXERS Versuchen der Immunisierung von Meerschweinchen geht die Ueberlegenheit des erhitzten Seifenpräparates hervor (es verhindert das Natriumoleat ähnlich wie Glyzerin die Entwertung des Antigens durch die Hitze). Die Dosis von 10—20 mg verzögerte die später beigebrachte tödliche Infektion mit lebender Kultur bis zu 5 Monaten.

Camphenilansaures Natron eignete sich nicht zur Gewinnung eines Antigens aus Tuberkelbacillen, ebenso wenig ricinolsaures Natron (s. MARXER[2]).

e) Salzsäure.

Das Prinzip der wasserfreien Reaktionen suchten P. BERGELL & F. MEYER in den Dienst der Antigengewinnung zu stellen; sie stellten sich von 2 Tage alten Typhus-Ascitesagarplatten Aufschwemmungen in Kochsalzlösung her, die nach dem Sedimentieren in hohen Standgefäßen noch scharf zentrifugiert wurden.

Das gewaschene Sediment brachten sie im Vakuum bei höchstens 40° zur Trockne und behandelten die Masse mit gut getrockneter wasserfreier Salzsäure, die durch flüssige Luft kondensiert war. Das flüssige Gas wurde unter Vermeidung von Wasserzutritt völlig verdampft, der Rückstand mit physiologischer Kochsalzlösung auf der Schüttelmaschine extrahiert und durch Berkefeld filtriert. Die wasserklare Lösung veranlaßte nach intravenöser Injektion bei Kaninchen und einem Hammel nur geringe Temperaturerhöhung (Injektion von 0,5 bis 10 ccm steigend bei Kaninchen, 1—10 ccm steigend beim Hammel, von einem Filtrat, das in 20 ccm die Ausbeute einer 300 qcm großen Platte enthielt). Agglutinationstiter bei Kaninchen nach zwei Injektionen 1:100—1:1000, beim Hammel nach 12 Injektionen (120 ccm Lösung) Agglutinationstiter 1:3000, bakterizider Titer 1:1000. Wie W. Hoffmann[2] erwähnt, behandeln B. & M. zur Gewinnung ihres Typhusserums Pferde und Schafe intravenös mit diesem Antigen, danach mit Bouillonfiltraten. Eine ausführliche Antikörperanalyse dieses Serums gibt W. Hoffmann.

3. Glyzerin. Harnstoff. Chloroform. Alkohol.

a) Glyzerinextraktion mit und ohne Erhitzen.

1. Tuberkelbacillen.

α) Tuberkuline. Unter die Glyzerinextrakte rechnet man das Tuberkulin Kochs, freilich ist die Herstellung kein reines Extraktionsverfahren, vielmehr enthält das Präparat auch die Stoffwechselprodukte und Nährbodenbestandteile (R. Koch[9, 10]).

Ursprünglich allerdings benutzte Koch lediglich ein Glyzerinextrakt; Züchtung der Tb. auf Glyzerinagar, abspülen, Sammeln auf feinem Drahtnetz, Uebergießen mit 4-proz. Glyzerinlösung, Eindampfen auf den 10. Teil, abfiltrieren. Das Filtrat ist das älteste Tuberkulin. Später ging Koch von Kulturen aus, die auf schwach alkalischer (1 Proz. Pepton, 4—5 Proz. Glyzerin) Kalbfleischbouillon bei 38° 6—8 Wochen gezüchtet waren. Koch fand keinen Unterschied in der Wirksamkeit des Tuberkulins, ob als Ausgangskultur ein frisch gezüchteter oder mehrere Jahre alter Laboratoriumsstamm verwendet wurde. Koch überzeugte sich dann, daß ein Teil des wirksamen Stoffes von der Bakterienhaut schon bei der Züchtung in die Kulturflüssigkeit überging, er extrahierte daher in der Folge die Kultur nicht mehr mit Glyzerinwasser, sondern mit der Kulturflüssigkeit selbst, indem er die gesamte Kultur eindampfte (auf dem Wasserbade auf den zehnten Teil des ursprünglichen Volumens) und dann durch Ton- oder Kieselgurfilter filtrierte. Dies Tuberkulin enthält 40—50 Proz. Glyzerin, trotzdem ist es vor Verschimmelung zu hüten. Wässerige Lösungen halten sich nur einige Tage, sind mit 0,5 Proz. Karbolsäure anzusetzen und vor Licht zu schützen. Am besten stellt man die Verdünnung (mit sterilem Wasser) kurz vor dem Gebrauch her.

Das Tuberkulin der Höchster Farbwerke wird nach dieser Kochschen Vorschrift hergestellt. Der Inhalt der bewachsenen Kolben wird in eine graduierte Glasbirne geschüttet, die in ein 60°-Wasserbad taucht, allmählich wird die Wasserbadtemperatur auf 90° gesteigert. Das auf $^1/_{10}$ seines Volumens eingeengte Präparat ist das Alttuberkulin. Unter Tuberkulin-Original-Alt (TOA.) versteht man die nicht eingeengte filtrierte Kulturflüssigkeit, die geringe Toxizität besitzt. Durch Einengen von TOA. im Vakuum bei niederer Temperatur (auf $^1/_{10}$ seines Volumens) wird das Vakuumtuberkulin erhalten, dies Präparat ist haltbarer als TOA. Die Höchster Farbwerke liefern die analogen Präparate auch aus Kulturen vom Typus bovinus.

Stellt man sich Tuberkulin selbst her, so besteht die einzige Schwierigkeit in der Gewinnung der Häutchen-Massenkulturen. Man muß erst den zu benutzenden Stamm zwingen, auf Oberflächen Häutchen zu bilden. Das gelingt auf Glyzerinbouillon in Röhrchen oder Kölbchen, wenn man bei der Impfung das Kulturmaterial möglichst sorgfältig mit starkem Platindraht an der Innenwand der Gläser in der Gegend verreibt, welche mit dem Flüssigkeitsspiegel beim Einstellen in den Brutschrank in Berührung kommt. Zweckmäßig wählt man die Flüssigkeitsschicht nur 2—3 ccm hoch. In manchen

Fällen gelang es mir schneller Häutchenbildung zu erreichen, wenn ich die Gläschen mit Glyzerinbouillon vor dem Sterilisieren mit 0,5 bis 2 mm dicken Korkscheiben (hergestellt durch Zerschneiden eines gewöhnlichen ungebrauchten Flaschenkorkes mit scharfem Messer) versah, die durch zahlreiche Einstiche mit einer ausreichend starken Präpariernadel durchlocht waren. Auf diese Scheiben, die auf der Oberfläche schwimmen, werden kleine Kulturbrocken bei der Einimpfung aufgetragen, von denen aus es zur Hautbildung kommt. Zur Ueberimpfung auf neue Bouillonkolben — zweckmäßig sind die Flachkolben aus Jenaer Glas — verwendet man am besten Häutchen, die noch dünn und nur einseitig mit Flüssigkeit benetzt sind, diese Häutchenstücke halten sich dann auf der Oberfläche der neugeimpften Kolben. Der Brutschrank muß vor Erschütterung bewahrt sein.

Von dem Tuberkulin übt 0,01 ccm beim gesunden Menschen kaum eine Folgeerscheinung aus, bei 0,25 ccm reagiert der Gesunde mit sehr ernsten Erscheinungen. Beim gesunden Meerschweinchen (250 g Gewicht) wirken 10 bis 15 ccm tödlich. 2 ccm vertragen diese Tiere glatt, Kaninchen vertragen 5 ccm.

Anders bei Tuberkulösen: Der tuberkulöse Mensch reagiert bei $^{2}/_{10}$ mg bis 1—10 mg nach subkutaner Applikation (Temperaturerhöhung etc.), tuberkulöse Meerschweinchen starben bei 0,5 ccm. Wie sich herausgestellt hat, richtet sich die Giftwirkung bei den tuberkulösen Tieren nach dem Stadium der tuberkulösen Erkrankung dieser Tiere. Die von verschiedenen Tuberkulosestämmen hergestellten Tuberkuline verhalten sich auch verschieden, man hat solche hergestellt, von denen schon 0,05 ccm, ja sogar 0,02 ccm (Weber) tuberkulöse Meerschweinchen töteten.

Ueber Technik der Injektion und über die Methodik der Immunisierung, die eine therapeutische Aufgabe darstellt, vgl. Bd. IV.

Hier sei nur kurz erwähnt, daß man beim tuberkulösen Menschen mit 1 mg bis $^{1}/_{10}$—$^{1}/_{20}$—$^{1}/_{100}$ mg beginnt und ganz allmählich steigert in Zwischenpausen, während deren der Organismus Zeit zur Antikörperbildung (10—14 Tage) und Erholung hat. Vorsichtig behandelte Menschen zeigen dann Immunität gegen 0,5 und sogar 1 ccm unverdünnten Tuberkulins.

Wertbestimmung des Alt-Tuberkulins s. Bd. IV.

Landmanns Verfahren der fraktionierten Extraktion bei schrittweise steigender Temperatur. Tuberkulol.

Bouillonkulturen von hoher Virulenz (Tierpassagen) werden durch Fließpapier filtriert, die Bakterien werden längere Zeit bei 40° mit dem Extraktionsmittel (physiologische Kochsalzlösung, destilliertes Wasser, verdünntes Glyzerin) behandelt. Darauf wird dekantiert und der Bodensatz mit einem neuen Aufguß der Extraktionsflüssigkeit bei 50° behandelt. Landmann fährt so fort bis 100°, vereinigt dann die bei den verschiedenen Temperaturen gewonnenen Extrakte und dampft sie bei 37° im Vakuum ein. (Von dieser Flüssigkeit tötet meist schon 0,1 ccm ein gesundes Meerschweinchen, 250 g.) Landmann verimpft dieses Extrakt mit der im Vakuum bei 37° ad maximum konzentrierten und durch Filtration gereinigten Bouillon, von dieser Mischung wirkt weniger als 1 ccm tödlich auf Meerschweinchen (250 g), sie wird durch Tonkerzen filtriert und mit 0,5-proz. Phenollösung so weit verdünnt, daß 1 ccm gerade die tödliche Dosis für 1 Meerschweinchen enthält. Da die Lösung bei längerem Stehen an Wirksamkeit verliert, wird sie in Trockenform gebracht. (Patentschrift Nr. 108593, Klasse 30, 5. Nov. 1898, E. Merck, Darmstadt.)

Landmann vermochte Meerschweinchen von 300 g gegen die 10-fach tödliche Dosis lebender Tuberkelbacillen (unter Weiterbehandlung auch nach erfolgter Verabreichung dieser Dosen) zu schützen. Die Tiere erhielten Dosen von 0,04—1,0 ccm.

Schemata zur Immunisierung des erkrankten Menschen s. Landmann. (Beginn mit 0,005 mg, d. h. kleinsten, nicht temperatursteigernden Dosen. Schließlich Dauerbehandlung mit großen Dosen in langen Zwischenräumen.) Ein Vorteil des Tuberkulols liegt in der Möglichkeit, seine Stärke am gesunden Tier genau prüfen zu können, so daß eine exakte Dosierung möglich ist (Siegesmund).

Bei Herstellung anderer Tuberkulinpräparate ist man teils davon ausgegangen, die Giftstoffe durch weniger eingreifende Verfahren zu gewinnen (niedrigere Extraktionstemperatur, s. oben LANDMANN), ferner hat man die Nährlösung für die Gewinnung der Kulturen geändert, so läßt BÉRANECK das Pepton weg (Kritik bei SIEGESMUND).

R. KOCHS albumosefreies Tuberkulin (Tuberkulin AF.) wird in der Weise gewonnen, daß humane Tb. auf albumosefreien Nährlösungen (Erlenmeyerkölbchen mit anorganischen und zitronensauren Salzen nebst Asparagin) ca. 2 Monate bei 37° so gezüchtet werden, daß die Flüssigkeit auf etwa 1/4 des ursprünglichen Volumens abdunstet. Filtration (Papier) mehrmals, verschiedengradige Einengung unter Vermeidung höherer Hitze, Zusatz von 0,5 Proz. Karbol zur Abtötung etwa noch vorhandener Tuberkelbacillen. R. KOCH wollte durch Fernhalten der Fleischextraktivstoffe und des Peptons etwaige durch Albumose erzeugte Fiebererscheinungen (anaphylaktischen Ursprungs) vermeiden (JOCHMANN & MÖLLERS).

Dies Präparat wirkt nach FREYMUTH milder als Alttuberkulin, erzeugt subkutan keine Tuberkulinantikörper (Komplementbindung), bewirkt aber gegenüber diesem starke Ueberempfindlichkeit. Weiterbehandlung (nach größeren Dosen des albumosefreien Präparates) mit Bacillenemulsion. Siehe auch die weitere Arbeit von JOCHMANN & MÖLLERS.

Hier ist das auf eiweißfreien Nährböden (Asparagin 6, milchsaures Ammon 6, neutrales Natriumphosphat 3, Kochsalz 6, Glyzerin 40, Aqua dest. 1000) von LÖWENSTEIN & PICK gewonnene Tuberkulin zu erwähnen, das weder eine Albumose noch ein Pepton ist, sondern sich wie ein Polypeptid verhalten soll. — Siehe auch MARIE & TIFFENEAU.

Auch Tuberkulol wird neuerdings auf eiweißfreien Nährböden hergestellt, was bei Verwendung größerer Dosen (1 ccm und mehr) eine Milderung der nicht spezifischen Reizerscheinungen zur Folge hat.

Ueber Endotin (Tuberculinum purum) (Behandlung des fertigen Alttuberkulins mit Alkohol, Xylol, Aether, Chloroform, nach Dekantieren und Zentrifugieren Behandlung mit heißer Lauge) siehe Bd. IV.

Ob in immunisatorischer Hinsicht mit solchen Tuberkulinpräparaten, die milder wirken, viel gewonnen sein dürfte, muß die Zukunft lehren. Nach LANDMANN ist die Furcht vor dem Albumosegehalt des Tuberkulins wenig berechtigt, man muß auch den Gehalt an Fleischextraktivstoffen und Glyzerin berücksichtigen. Es sind daher wohl auch die Bestrebungen, Tuberkulin von eiweißfreien Nährlösungen zu gewinnen, von mehr theoretischem Interesse. Ein Fortschritt in der Herstellung des eiweißfreien Tuberkulins besteht darin, daß die schädigende Wirkung der Hitze vermieden ist (s. oben LANDMANN). Es ist abzuwarten, inwieweit durch diesen Gehalt an nativen Eiweißstoffen (anaphylaktische Erscheinungen!) die Immunisierung beeinflußt wird.

Ueber weitere Tuberkulinpräparate, die mehr in das diagnostische und therapeutische Gebiet gehören, siehe Bd. IV.

Gute Uebersicht auch bei BANDELIER & ROEPKE.

β) B. MARXER[2, 3] stellt ein Antigen wie folgt her: 1 g Tuberkelbacillen : 50,0 80-proz. Glyzerin wird 8 Tage im Schüttelapparat bei 37° geschüttelt. Nach 4-tägigem Schütteln erfolgt Erhitzen auf 70° bis 72° 1 Stunde lang (im Wasserbad), darnach abermals Schütteln 4 Tage.

Immunisierungsversuche an Meerschweinchen mit Präparaten aus Typus bovinus und Typus humanus s. MARXER[2].

Auch aus diesen Versuchen folgert MARXER, daß die spezifische Antigennatur des Tuberkelbacillus durch das Schütteln nicht leidet. Von Interesse ist, daß die Kombination mit dem Erhitzen das Antigen nicht minderwertiger macht, während doch durch Erhitzen nicht-

glyzerinisierter Tuberkelbacillen ein brauchbares Antigen nicht zu erhalten ist. MARXER meint, daß das Glyzerin die Entartung des spezifischen Eiweißes der Tuberkelbacillen durch die Erhitzung verhütet. Es ist aber auch wohl dabei in Betracht zu ziehen, daß zur Herstellung des bekanntlich unbrauchbaren erhitzten Antigens bisher die von Kulturen abgehobenen Tuberkelbacillen benutzt wurden, daß es sich aber hier um das Erhitzen eines durch 4 Tage langes Schütteln gewonnenen Extraktes handelte — zwei Impfstoffe, die nicht vergleichbar sind.

2. Rotzbacillen. Das KOCHsche Verfahren zur Tuberkulingewinnung wurde zur Extraktion auch anderer Bakterienarten nachgeahmt, am bekanntesten ist das Mallëin, das eine Bedeutung für die aktive Immunisierung nicht zu erhalten vermochte. Herstellung s. Bd. V.

3. Typhus. LEISHMAN - HARRISON - GRATTAN - ARCHIBALD lösten Typhusbacillen durch Glyzerin auf (Zusatz von 20 Proz. neutralen Glyzerins zu einer Kultur; 4 Tage 37°). Wenn dies Antigen von virulenten Kulturen stammte, erwies es sich im Tierversuch brauchbar.

4. Pest. Extraktion von 1-tägigen auf Agar gewachsenen Pestkulturen mit Glyzerin nahm GABRITSCHEWSKY[2] vor, und behandelte mit diesem Antigen Pferde.

b) Extraktion mittels Harnstoffs nahmen LEVY, BLUMENTHAL & MARXER bei Rotzbacillen vor.

Die Bacillen wurden bei 37° 16—18 Stunden mit 10-proz. Harnstofflösungen geschüttelt, sodann mehrere Stunden zentrifugiert, bis die überstehende Flüssigkeit bakterienfrei war. Sie wurde im Vakuum bei möglichst niederer Temperatur bis zur Trockenheit eingedampft und gepulvert. Meerschweinchen, die mit 0,02—0,2 g. Bakterienextrakt subkutan und intraperitoneal vorbehandelt worden waren, erwiesen sich als immun gegen die mehrfach tödlichen Dosen vollvirulenter Rotzbacillen (intraperitoneal). MARXER dehnte die Versuche auf Pferde aus.

Das Harnstoff-Rotzbacillenpräparat trägt den Namen Farase.

Sie wird hergestellt von der Chemischen Fabrik auf Aktien, vorm. E. SCHERING, Berlin. Es ist ein grauweißes Pulver von kristallinischer Beschaffenheit, das sich in destilliertem Wasser leicht löst. BAUTZ & MACHODIN fanden es steril. Diese Autoren konnten bei der Injektion die lokalen Reaktionen verringern und Abszedierung vermeiden, indem sie das nötige Quantum Farase in 15 bis 20 ccm dest. Wassers lösten und diese Menge auf mehrere Impfstellen verteilten. Versuche an Meerschweinchen, Katzen, Pferden ergaben die Unschädlichkeit des Mittels selbst in den doppelten Dosen, die zur Immunisierung ausreichen sollen. MARXER empfiehlt zur Immunisierung von Meerschweinchen 0,2 g, bei einer zweiten Impfung 0,4 g Farase intraperitoneal; bei Pferden I. Impfung mit 0,4, II. Impfung mit 0,8 g. Die erste Injektion nahmen BAUTZ & MACHODIN bei Füllen an der Halsseite vor, es bildeten sich flache, ziemlich feste Infiltrationen, die bis zum 7. Tage wieder verschwanden. Temperaturerhöhung um 1°, Verminderung der Freßlust. Nach 3 Wochen erfolgte die Injektion der doppelten Dosis an der anderen Halsseite, wobei die gleichen Erscheinungen zur Beobachtung kamen. 45 Tage nach der zweiten Impfung erfolgte die Infektion (subkutan) mit virulentem Virus. Von 7 immunisierten Füllen erkrankte eins an Rotz, die übrigen zeigten $2^1/_2$ Monate nach der Infektion keine Erkrankungserscheinungen, auch 2 immunisierte und der natürlichen Infektion ausgesetzte Füllen nicht. Siehe auch DEDJULIN.

Von Interesse sind die Beobachtungen LEVYS über die Giftwirkung der mit Glyzerin oder Harnstoff abgeschwächten, abgetöteten oder extrahierten Rotzbacillen: Die abgeschwächten Bacillen entfalteten keine so große Giftwirkung wie die abgetöteten. Am giftigsten

wirken wiederum die nach der Abtötung noch weiter mit Glyzerin oder Harnstoff geschüttelten Bacillen. Subkutan wurden abgetötete Bacillen weniger gut vertragen als intraperitoneal, bei abgeschwächten Bacillen schien es umgekehrt zu sein.

LEVY führt Beispiele an, die beweisen, daß es sich unter dem Einfluß der Glyzerinbehandlung um eine wirkliche Abschwächung der Lebenseigenschaften, nicht lediglich um eine Keimverminderung handelte: die Schüttelextraktstoffe wirkten nicht infektionsbefördernd, sondern immunisierend, und zwar um so stärker, je dichter die Emulsion war, d. h. je mehr Extraktstoffe mit verabreicht wurden, die daraufhin eintretende Immunität schützte gegen die gleichzeitig einverleibten lebenden abgeschwächten Bacillen, wenn die Einverleibung subkutan geschah; erfolgt sie intraperitoneal, so kann es vor Eintritt der Immunität zur Infektion kommen (durch die abgeschwächten und infektiöser gewordenen Mikroorganismen).

c) Chloroform. Durch Extraktion von 4 Tage bei 32° gezüchteten Pestbacillen (3-proz. Agar mit 2 Proz. Pepton und 1 Proz. Lemco) mit Chloroform konnte ROWLAND eine nukleoproteinartige Substanz gewinnen, die 32—49 Proz. Ratten gegen die tödliche Infektion mit lebender Kultur schützte.

Ueber Chloroformlöslichkeit von Typhusantigen bei Gegenwart von Lecithin s. P. TH. MÜLLER[2].

d) Alkohol. Bisher ist nicht sicher erwiesen, ob alkoholische Extrakte im Tierversuch als Antigene brauchbar sind, weil man in den meisten Fällen versäumt hat, die Bakterienzelleiber oder -zellreste aus dem Extrakt zu entfernen. Literatur und Kritik bei C. PRAUSNITZ, s. auch S. 58.

4. Lecithin. Neurin. Cholin.

Die Versuche, durch Behandlung von Bakterien mit Lecithin brauchbare Antigene zu gewinnen, sind so widersprechend ausgefallen, daß sie hier nicht ausführlich berücksichtigt zu werden brauchen: Die einzelnen Lecithinpräparate, aber auch die einzelnen Bakterienstämme verhalten sich ganz verschieden.

Vgl. BASSENGE[1,2,3] (Typhus), PICK & SCHWARZ (Typhus), M. WASSERMANN & A. SEITZ (Typhus), G. VALLET & L. RIMBAUD (Typhus, Paratyphus A und B).

DEYCKE & MUCH bezeichnen als Tb-L. eine aus Tuberkelbacillen durch Aufschließung mit Lecithin gewonnene Substanz. Sie besitzen einen Typ. humanus, der in der Menge von 0,04 g feuchter Bacillensubstanz in 1 ccm Lecithinemulsion nach einigen Tagen ein fast vollständiges Verschwinden der säurefesten Bestandteile aufweist. Die nähere Behandlung ist nicht angegeben. Tb-L. enthält wenig Fett, ist dagegen relativ eiweißreich, es wirkt nicht toxisch, aber immunisierend. Dieselben Autoren gewannen aus getrockneten und völlig entfetteten Tuberkelbacillen durch Alkylamine oder noch besser durch solche Substanzen, die leicht Alkylamingruppen abspalten, lösliche Stoffe, die sie nach Abfiltration von den Zellresten mit Essigsäure ausfällten, diesen eiweißkörperhaltigen Stoff nennen sie Tb-A. Im Meerschweinchenversuch wirkte Tb-A in keiner Weise immunisierend, hingegen trat nach Vorbehandlung mit einer Mischung von Tb-A. und Nastin bei einigen Tieren Immunität ein, einige starben an Ueberempfindlichkeit nach einer Zweitinjektion lebender Tuberkelbacillen. Die Dosen der Immunisierung waren z. B. (Meerschweinchen 269) 21. IX. 08 subkutan 0,001 Nastin + 0,001 Tb-A., die gleichen Dosen 4 Wochen später. 99 Tage nach der letzten Behandlung Injektion tödlicher Tuberkelbacillenmengen (Typ. hum.). Für die Immunisierung der Meerschweinchen mit Tb-L. ist mindestens die Dosis 1 ccm nötig. Die Injektion darf nicht zu zeitig erfolgen, da sich die Immunität langsam entwickelt.

Die Wirkung der einzelnen Lecithinsorten des Handels, sowie auch der Lecithinpräparate ein und derselben Fabrik ist sehr ungleichmäßig. Neuerdings verwenden Deycke & Much als Lösungsmittel das Lecithin Poulenc frères (bei Temperaturen von 50—52°), und zwar die 10-proz. Emulsion, wie sie für Injektionen im Handel sind (Ovo-Lecithine Billon. Emulsion de Lécithin à 10 pc., Ampoule de 20 ccm). Das Präparat vermag Menschentuberkelbacillen (bestimmte Stämme) schon in mehreren Tagen und auch einen Stamm des Typus bovinus aufzulösen, das letztere erfolgt allerdings erst nach bedeutend längerer Zeit.

Wie auch die Versuche von Sieber & Metalnikoff zeigen, muß man auch auf ein sehr ungleiches Verhalten der einzelnen Tb.-Stämme gefaßt sein. Aus den angegebenen Gründen erklären sich wohl die Resultate von Beyer, der selbst nach 1 Jahr die Tb. in Lecithin noch säurefest fand.

Nach den gleichen Methoden, die Deycke & Much zur Aufschließung von Tuberkelbacillen mittels Lecithin anwandten, behandelten sie auch Milzbrandbacillen, M-L. und M-A. Eine Abtötung der Bacillen trat nur ein durch Anwendung höherer, die relativen Eigenschaften nicht schädigender Hitzegrade (welcher?). Auflösung der Bacillen erfolgte nicht, sie waren aufgequollen, aber färbten sich noch. Beide Präparate erwiesen sich im Tierversuch als giftig (0,005 g M-A. tötete kleine Kaninchen [500 g] meist schon nach zwei Tagen [subkutan], 0,001 nach 10-12 Tagen). — Meerschweinchen, die subkutan 0,001—0,003 des Anthrax-Albuminates (M-A.) erhielten, zeigten sich bei der 6—17 Tage später erfolgten subkutanen Injektion tödlicher Anthraxdosen zum größten Teil immun, doch ist die Immunisierung nicht gleichmäßig, mehrere Tiere „sind augenscheinlich an den Giften zugrunde gegangen", die Virulenz des zur Nachimpfung benutzten Anthraxstammes war keine sehr hohe (0,0001 tötete subkutan in 3, 0,00008 in 7 Tagen).

Ueber eine auffallende Beobachtung berichten Pick & Schwarz: behandelten sie Kaninchen mit einer Aufschwemmung von Typhusbacillen in einer 1-proz. Emulsion von Lecithin in Kochsalzlösung vor, so erhielten sie mit sehr geringen Mengen dieses Antigens in kurzer Zeit relativ hohe Agglutinationswerte bei den subkutan behandelten Tieren, sie vermuten, daß Lipoideiweißverbindungen in der Lipoidbacillenemulsion entstehen und bei dem Immunisierungsprozeß von Bedeutung sind. (Vgl. hierzu P. Th. Müller[2].)

Ersetzten sie Lecithin durch Organlipoide, so war der Agglutinationstiter der Immunsera, gewonnen durch Injektion der Emulsion von Typhusbacillen in Serumlipoiden und Leukocytenlipoiden, höher als bei Verwendung von Leber- und Nierenlipoiden.

Deycke & Much haben ferner Cholin und besonders Neurin zum Lösen der Tuberkelbacillen benutzt.

Von Cholin haben sie wegen der Verschiedenheit des Handelspräparates später Abstand genommen (vgl. auch Löwenstein[1]). Für die Verwendung von Neurin empfehlen sie neuerdings folgende Methode: 1 g menschlicher Tuberkelbacillen werden im Achatmörser mit 10 g 25-proz. Neurinlösung verrieben. Die Mischung wird 4 Stunden bei 56° gehalten. Es sind dann alle Bacillen aufgelöst. Hält man bei 37°, so tritt zwar eine sehr starke Lösung ein, aber es finden sich noch Tuberkelbacillen im Sediment. Die Injektion der bei 56° aufgelösten Bacillen hat bei Menschen und Tieren keine oder eine kaum angedeutete Pirquetsche Tuberkulinreaktion zur Folge. Daß sich andere Stämme von Tuberkelbacillen anders verhalten, geht schon aus der zitierten Arbeit von Löwenstein[1], ebenso aus den Versuchen Lindemanns hervor, der auch nach der neuesten von Deycke & Much angegebenen Methode eine vollständige Auflösung der sämtlichen Tuberkelbacillen nicht eintreten sah. Vgl. hierzu auch F. Ditthorn, ferner Aronson[2], der die bei 56° erfolgende Auflösung bestätigt, aber die Wirkung lediglich als Alkaliwirkung auffaßt, da er mit entsprechend konzentrierten Lösungen von Tetramethylammoniumhydrat ebenfalls Auflösung eintreten sah. Denselben Standpunkt vertreten F. Jessen & L. Rabinowitsch.

Der Firma Kalle & Cie., Biebrich a. Rh., sind Verfahren zur Gewinnung von Impfstoffen aus Tuberkelbacillen und anderen säurefesten Bacillen

durch deren Behandlung mittels Lecithin, Neurin, Cholin, Ammoniumbasen, fixe Alkalien patentiert (Patentschriften Klasse 30 h, Gruppe 6, Nr. 212 350, 227 792, 227 793, 229 969, 234 227).

Lipoidartige Stoffe scheinen auch in der Pyocyanase die Tötung oder Lösung eingebrachter Bakterien zu bewirken.

Hierher gehört die Antigengewinnung aus Milzbrandbacillen durch lebende oder sterile Pyocyaneusbouillonkulturen: D'AGATA vermischt durch 1-stündiges Erwärmen auf 55° abgetötete Pyocyaneusbouillonkulturen mit 1-tägigen Milzbrandkulturen und läßt die Mischung in zugeschmolzenen Röhrchen 20 Tage im Dunkeln bei Zimmertemperatur stehen. Das so gewonnene Antigen ruft (subkutan) bei Kaninchen und Schafen nur geringe Reaktionen hervor.

F. Antigengewinnung durch Einwirkung von Fermenten auf Bakterien.

E. GOTTSTEIN versuchte aus Typhusbacillen ein Antigen zu gewinnen dadurch, daß er die Bakterienleiber der künstlichen Verdauung unterwarf, er vermied dabei die Einwirkung chemisch differenter Stoffe und höherer Temperatur, um den physiologischen Prozeß der Bakteriolyse nachzuahmen. 18-stündige Massenkultur (Flachkolben) wurden mit reichlich dest. Wasser (auf 1 Kultur 50—60 ccm) abgeschwemmt, mit Chloroform gut durchgeschüttelt und 18—20 Stunden stehen gelassen. Danach Zusatz von konz. Salzsäure 0,25 bis 0,4 Proz. und 1,5—2 g Pepsin (Peps. sicc. solubile MERCK). Einstellen bei 37°, öfters umschütteln. Nach 6—8 Stunden weitere Zugabe von 0,5—1 g Pepsin (bei großen Mengen Kultur auch nach 1 bis 1½ Tag nochmals 1—2 g Pepsin). Nach 3—4 Tagen Zentrifugieren, die klare Lösung abgießen und durch Berkefeld filtrieren, Zusatz von 3-proz. Sodalösung bis Reaktion auf freie HCl gegen Kongopapier verschwindet, Lackmuspapier aber noch Rotfärbung zeigt, Eindampfen im Vakuum bei 37° zur Trockne. Auflösen abgewogener Mengen (3—6 Teile) in 100 Teilen 0,5-proz. Karbollösung (Typhus-Fermotoxin, d. h. ein durch Fermentation gewonnenes Gift). Die nicht durch Pepsin angreifbaren Bacillenteile bezeichnete G. als Typhusrest.

G. konnte Meerschweinchen mittels des Fermotoxins gegen tödliche Dosen dieses Antigens sowie lebender Typhusbacillen schützen, die Immunität war keine bakteriolytische oder bakteriotrope. Fortsetzung der Versuche GOTTSTEINS an Ziegen, Pferden siehe M. MATTHES, ferner M. LÜDKE[4, 5] der letztere erhielt auch wirksame Präparate, wenn er das Filtrat mit geringerer Alkalimenge versetzte und die weniger eingeengte Flüssigkeit benutzte.

Auch FRIEDBERGER[3] konnte an Choleravibrionen nachweisen, daß Pepsin- resp. Trypsinzusatz (zu je 5 Oesen der bei 60° abgetöteten Kultur, Berührungsdauer 12 Stunden, Filtration durch Kerzen) das Antigen nicht vollständig zerstört, die angedauten Bakterienrückstände waren besonders gut wirksam. (Steigerung des bakteriolytischen Wertes nach intravenöser Verabreichung an Kaninchen (½ Oese) um das ca. 500-fache des Normalwertes, des Agglutinins um das 20-fache.)

G. Aktive Immunisierung mit Extrakten aus infektiösen Organen.

MAKSUTOW zerkleinerte die jüngeren Perlknoten tuberkulöser Rinder und extrahierte die Masse mit 1-proz. Karbolsäure, destilliertem Wasser, Alkohol- und Glyzerinlösungen. Filtration. Er behandelte vier

Monate lang Meerschweinchen mit steigenden Dosen. Sie vertrugen schließlich intraperitoneal frisches Perlknotenmaterial. Ziegen erhielten während $1^1/_2$ Jahren Dosen von 20 bis 250 ccm steigend, das Serum dieser Ziegen soll den tuberkulösen Prozeß bei Meerschweinchen, die mit Perlsuchtmaterial geimpft sind, beeinflussen. — Vgl. auch KRAUS & VOLK[1]: Extrakte aus tuberkulösen Meerschweinchenorganen. Verimpfung auf Meerschweinchen intraperitoneal und intravenös — im letzteren Falle starke Giftwirkung.

BRUSCHETTINI & MORELLI immunisierten Kaninchen gegen Pneumokokken mit einem Extrakt aus der Lunge von an Pneumokokkeninfektion zugrunde gegangenen Kaninchen. Die Kaninchen waren intravenös infiziert 10 Stunden nach intratrachealer Einverleibung von 3—5 ccm Mellins Food Emulsion. Das Extrakt wurde durch Zerreiben mit Quarzsand, Aufschwemmen in Kochsalzlösung und $1^1/_2$—2-tägiges Halten der mit Toluol versetzten Masse bei 37° gewonnen.

Antigen aus den Organen der Brust- und Bauchhöhle, sowie aus Muskeln schweinepestinfizierter Tiere stellt die Firma L. W. GANS-Frankfurt a. M. her (nach der Patentschrift Nr. 224851, Klasse 30h, Gruppe 6, vom 12. März 1908 durch Auspressen oder durch Extraktion oder Autolyse, Abtötung des Virus durch Chloroform, Toluol u. dgl.).

Mit einer gewissen Berechtigung kann man hier die von BARTEL gemeinsam mit NEUMANN und HARTL mittels Organgewebe hergestellten Tuberkuloseimpfstoffe einreihen. Sie benutzten Tuberkelbacillen (humane und bovine), die gesunden Tieren von den Blutgefäßen aus injiziert waren und in den Organen längere Zeit verweilt hatten: Die Organstücke wurden subkutan verimpft. Oder die Antigenherstellung geschah in vitro dadurch, daß Kulturbacillen in Lymphdrüsendekokten bei 37° längere Zeit gehalten wurden. Das keimfreie Filtrat diente zu Immunisierungsversuchen direkt oder nach abermaliger Einsaat von Kulturbacillen und Aufbewahren bei 37° (ohne nochmalige Filtration). Vorbehandelt wurden Meerschweinchen und Kaninchen. Meist war Resistenzerhöhung nachzuweisen (in einzelnen Fällen auch Ueberempfindlichkeit bei folgender Impfung mit virulentem Material). —

H. Aufschließung von Bakterien durch tierische Sera.

Die Methoden dieser Gruppe bemühen sich, den im Organismus sich abspielenden Vorgängen näher zu kommen: sie führen wirksame Bestandteile der Bakterienzelle in eine lösliche Form entweder durch einen anderen lebenden Organismus oder durch einem solchen entnommene Säfte über. Man erwartete damit, daß das Antigen weniger als durch andere Extraktionsverfahren alteriert würde. Das ist in vereinzelten Fällen wohl der Fall: es hat sich aber doch ergeben, daß vorläufig auch dieser Methode die Mängel der anderen Extraktionsarten anhaften. Auch das so gewonnene Antigen ist sehr labil, so daß es im Laufe der sich nötig machenden weiteren Behandlung (Sterilisierung, Zentrifugieren usf.) stark leidet. Es ist aber eben auch möglich, daß die Wirksamkeit des dominanten Antigens gewissermaßen nur in statu nascendi eine dem natürlichen Immunisierungsvorgang gleichwertige ist, so daß wir dieses Antigens in vitro überhaupt nicht habhaft werden können und daß wir bei seiner Uebertragung aus einem Organismus in den anderen niemals die volle Aktivität erwarten dürfen.

1. Zu den Methoden der aktiven Immunisierung durch Bakterienextrakte (oder Zerfallsprodukte der Bakterienzelle) rechnet man heute auch die Immunisierung durch Aggressine nach BAIL. Hierbei ge-

schieht die Aufschließung der Bakterienzelle durch einen Tierorganismus, das Extrakt ist in dem entstehenden Exsudat befindlich, dessen korpuskuläre Elemente durch Zentrifugieren entfernt werden.

Aggressingewinnung. Beispiel: Typhus- und Choleraaggressin.

Von virulenten Kulturen werden übertödliche Dosen, z. B. eine ganze Agarröhrchenkultur (1 Tag alt, suspendiert in physiologischer NaCl-Lösung) mittelschweren Meerschweinchen (350—400 g) intraperitoneal eingespritzt. Sobald das Tier gestorben ist, wird das Exsudat entnommen (mittels steriler Kugelpipette mit Gummisauger oder dergleichen) und stark zentrifugiert (eventuell unter Zusatz von sterilem Asbestpulver); da man nicht sicher ist, ob nicht doch noch lebende Bakterien in der klaren Flüssigkeit vorhanden sind, so wird Chloroform, Toluol oder 0,25-proz. Phenol zu der abgegossenen klaren Flüssigkeit, dem Aggressin, zugesetzt, die Mischung bleibt bis zum nächsten Tag im Eisschrank. Vor Verwendung zur Injektion ist das Chloroform oder Toluol im Vakuum zur Verdampfung zu bringen. Sterilitätsprüfung (Bouillon).

Weiteres Beispiel: Hühnercholeraaggressin (WEIL [1, 4]). Von Bouillonkulturen, 24-stündig, eines hochvirulenten Stammes wird 1 Tropfen mit mehreren Kubikzentimetern (5) steriler Bouillon vermischt, Injektion bei Kaninchen intrapleural. Sobald das Tier stirbt, wird das trübe Pleuraexsudat entnommen und — eventuell nach vorheriger Filtration durch Papierfilter — zentrifugiert. Zusatz von 5-proz. Karbolsäure tropfenweise unter Schütteln bis die Konzentration von 0,5 Proz. erreicht ist (kann auch vor dem Zentrifugieren geschehen, was das Ausschleudern beschleunigt). Die klare Flüssigkeit wird abgegossen und zum Zweck der Sterilisierung 3 Stunden bei 44° gehalten. Eintretende Trübung (Eiweißausfall) schadet nichts. Sterilitätsprüfung (Bouillon, 2 Tage).

Bei der Immunisierung des Schweins gegen Schweineseuche konnte WEIL auch mit Vorteil an Stelle des Kaninchenexsudates die ödematöse Flüssigkeit seuchekranker Schweine als Antigen benutzen.

Beispiele der Aggressinimmunisierung.

Hühnercholera. Kaninchen.

	0,5 ccm steriles Kaninchenexsudat (Aggressin) subkutan,
nach 8 Tagen	1,5 „ „ „ „ „
„ 8 „	3 „ „ „ „ „
„ 14 „	Infektion mit $^1/_{10}$ Oese Bouillon.

Kontrollkaninchen: $^1/_{20}$ Oese Bouillonkultur. Tod nach 24 Stunden. Das Serum ist zu passiver Immunisierung befähigt (0,5 ccm subkutan schützt Kaninchen gegen die Dosis letalis der virulenten Kultur), eine Eigenschaft, die z. B. nach BAIL auch das Serum aggressinimmuner Cholera- und Typhustiere, nach KIKUCHI auch das der Dysenterietiere zeigt.

Die Gewinnung einer genügenden Menge von Exsudat für Aggressinherstellung stößt mitunter auf Schwierigkeiten, da das entstandene Exsudat schnell resorbiert werden kann. Man darf daher nicht warten, bis die Tiere der Infektion erliegen, sondern muß sie eine bestimmte Stundenanzahl nach der Injektion der Kulturen in die Brust- oder Bauchhöhle töten. Die Zahl der Stunden muß durch Vorversuche festgestellt werden, sie richtet sich nach Tierart, Virulenz des Bakterienstammes usf.

RIEBE fand nach intraperitonealer Einverleibung von 10 ccm Rotlaufbouillon (Virulenz Dos. min. let. 0,5—1 ccm 48 Stunden alter Bouillon) für Kaninchen die günstigste Exsudatmenge nach 7 Stunden. An Stelle der Bouillonkulturen konnten auch die abgeschwemmten Agarkulturen (10 ccm Bouillon auf 2 Agarkulturen) verwendet werden.

Nicht für alle Aggressine eignet sich zur Sterilisierung die Erwärmung auf 44°. Rotlaufbakterien z. B. gehen beim Erwärmen auf diese Temperatur innerhalb des Exsudats erst nach 4 Tagen zugrunde, das dann aggressive Eigenschaften nicht mehr besitzt. RIEBE

sterilisierte diese Exsudate sicher durch 4 Stunden lange Anwendung von Formalindämpfen. (Tränkung des Wattestopfens mit Formalin — Flüssigkeit darf keinesfalls abtropfen! — mehrmaliges leichtes Schütteln der den Dämpfen ausgesetzten Exsudate.)

Weitere Versuche der Aggressingewinnung mit unerheblichen Modifikationen sind zu finden bei:

SALUS (B. coli), KIKUCHI (Dysenterie Shiga-Kruse), HOKE[2], BAIL & WEIL (Staphylokokken), HOKE[1] (Pneumokokken), WEIL[1] (Schweineseuche), CITRON[2] (Schweineseuche), WEIL[3] (Streptokokken),

Aggressinimmunisierungsversuche führten außerdem aus, u. a.:

BAIL[1] (Typhus, Cholera), BAIL[3] (Tuberkulose), BAIL[4] (Milzbrand), HUEPPE & KIKUCHI (Pest).

SULIMA (Hühnercholera, bei Kaninchen und Meerschweinchen erhielt S. unter Verwendung des natürlichen Aggressins bessere Resultate als mit künstlichem Kulturextrakt).

2. Pestimpfstoff nach TERNI-BANDI.

Intraperitoneale Infektion von Meerschweinchen oder Kaninchen mit Pestbacillen (in Bouillon). Sofort nach Exitus oder besser Tötung in Agone Entnahme des peritonealen Exsudates, Prüfung auf Freisein von Verunreinigung, unterdessen Aufbewahren im Eisschrank; dann bebrüten bei 37° 12 Stunden, an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 2 Stunden bei 50—52° sterilisieren, Zugabe von 0,5 Proz. Karbolsäure. 0,1—0,2 ccm schützen Meerschweinchen und Ratten vor tödlicher Dosis. (Für Immunisierung des Menschen werden 1,5 bis 2,5 ccm empfohlen.) Die Methode ist wegen der ungleichmäßigen Beschaffenheit der einzelnen Impfstoffe kaum empfehlenswert.

3. Im Gegensatz zu den genannten Methoden, bei denen der geimpfte Organismus die Auflösung der Bakterienzellen herbeiführt, stehen die Verfahren, bei denen man durch Säfte, die einem normalen Körper entstammen, die Aufschließung der Bakterienzellen in vitro vor sich gehen läßt.

Beispiel. Auflösung von Pneumokokken durch Galle.

NEUFELD[1] versetzte 3 ccm 20-stündiger Pneumokokkenbouillonkultur mit 0,2 ccm frischer Kaninchengalle. Nachdem die Röhrchen 1 Stunde bei Zimmertemperatur gestanden, erhielt ein Kaninchen 0,5 ccm der Lösung. 15 Tage später vertrug das gleiche Tier 0,01 ccm einer Pneumokokkenkultur (Kaninchenvirulenz 0,000001 ccm Kultur, Tod nach 3 Tagen). Auch in anderen Fällen schützte das Extrakt in der Menge von 2 ccm (Bouillonkultur aufgelöst durch 0,1 Galle) gegen die zehntausend- bis hunderttausendfache tödliche Menge der lebenden Kultur. Die Konzentration für die Auflösung ist stark zu wählen (1 Teil Galle auf 10—20 Teile Kultur).

J. Mechanische Zertrümmerung von Bakterien.

1. Im Mörser oder in Kugelmühlen (R. KOCH).

Nach R. KOCH[1] bildet den Schlüssel zu allen Methoden der Immunisierung gegen die Tuberkelbacillen deren Ueberführung in den resorptionsfähigen Zustand. Das erreichte er durch die Zertrümmerung der Tuberkelbacillen, sie gelingt durch längeres Zerreiben der gut getrockneten Kultur im Achatmörser mit Achatpistill. Da bei mikroskopischer Prüfung hierbei noch ein Rest intakter Bacillen blieb, so schwemmte R. KOCH die zertrümmerte Masse in destilliertem Wasser auf und zentrifugierte $^1/_2$—$^3/_4$ Stunde mit 4000 Umdrehungen in der Minute. Es entstand ein schlammiger fester Bodensatz und eine klare Schicht: TO. Der Bodensatz wurde wieder getrocknet, zerkleinert und zentrifugiert. Bei Fortsetzung dieses Verfahrens ergab sich kein unzertrümmerter Rest mehr. Den nach dem ersten Zentrifugieren erhaltenen und weiter verarbeiteten Rest bezeichnete er

als TR. Beide unterscheiden sich im mikroskopischen Präparat (Karbolfuchsin-Methylenblau): TR zeigt violette wolkenartige Gebilde, TO blaugefärbte Massen. Rotgefärbte Massen finden sich bei beiden nicht. Zusatz von 50 Proz. Glyzerin verändert TO nicht, hingegen enthält TR vor allem die glyzerinunlöslichen Bestandteile der Tuberkelbacillen, es entsteht nach Zugabe von Glyzerin ein flockiger, weißer Niederschlag.

TO entspricht in seiner Wirkung dem Tuberkulin und dem alkalischen Extrakt TA, es erzeugt keine Abszesse, aber auch nur sehr geringgradige Immunität.

TR wirkt immunisierend: auch wenn R. Koch bei Anwendung von TR die Reaktionen vermied, so zeigte sich beim Menschen bei vorsichtiger aber schneller Steigerung der Dosen doch eine Unempfindlichkeit gegen große Dosen des Mittels, die gleichen Menschen reagierten dann auch nicht mehr auf große Dosen des Tuberkulins und des TO. — R. Koch betont, daß nur hochvirulente, junge Kulturen zur Präparation von TR verwendet werden dürfen. Das Trocknen hat im Vakuum-Exsikkator zu geschehen. Kulturen, sowie das fertige Präparat sind vor Licht zu schützen. Gegen jedweden chemischen Eingriff ist TR empfindlich. Die Verarbeitung muß geschehen, sobald die Kultur gerade trocken geworden ist. Mit der Hand kann man höchstens 100 mg auf einmal zerkleinern. Die Trennung von TO und TR ist nur dann erreicht, wenn das klare TO mindestens 50 Proz. der festen Substanz aufgenommen hat.

Die Herstellung der Präparate mit der Hand ist mit großer Gefahr verbunden.

Die Farbwerke von Meister, Lucius & Brüning in Höchst a. M. stellen die Präparate genau nach der Kochschen Vorschrift her. Die Zertrümmerung erfolgt in Kugelmühlen (s. S. 122). Die Flüssigkeiten sind behufs Konservierung mit 20 Proz. Glyzerin versehen, ein Quantum, das auch TR verträgt.

Anwendung und Dosierung.

Injektion beim Menschen subkutan (Rücken). Das Präparat enthält in 1 ccm = 10 mg getrocknete Tuberkelbacillen = 2 mg Trockensubstanz und wird vor dem Gebrauch durch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung oder 20-proz. Glyzerin (diese Verdünnungen halten sich etwa 14 Tage) auf die gewünschte Dosis gebracht. Koch empfiehlt als Anfangsdosis $^1/_{500}$ mg subkutan. Langsame Steigerung ungefähr jeden zweiten Tag (Abwarten des Rückgangs etwaiger Temperatursteigerungen) bis auf 20 mg.

Zur Meerschweinchen-Immunisierung beginnt man mit 2—3 mg, sind die Tiere aber tuberkulös, so kann diese Dosis tödlich wirken, man beginnt dann mit viel niedrigeren Dosen. Für den Immunisierungseffekt bei Tieren kommt es darauf an, möglichst große Dosen beizubringen: diese müssen aber resorbierbar sein (Beurteilung nach Infiltrat an der Injektionsstelle). Meerschweinchen vertrugen schließlich wiederholt Impfungen mit virulenten Kulturen, wenn die letzte Verabreichung größerer Dosen des TR 2—3 Wochen zurücklag.

Im Anschluß an seine Prüfungen des Agglutiningehaltes des Serums Tuberkulöser hat dann R. Koch[2] an Stelle der Immunisierung mit TR eine solche mit der ungetrennten Kulturmasse empfohlen, er stellte einen Impfstoff direkt aus dem durch Zertrümmerung ge-

wonnenen Staub her, ohne in TR und TO zu scheiden. 1 Teil pulverisierter Tuberkelbacillen + 100 Teile destillierten Wassers. Hierzu gleiche Teile Glyzerin: es zeigte sich, daß dieser Zusatz von 50 Proz. Glyzerin für lange Zeit konservierte. Die Mischung bleibt einige Tage stehen und wird von den gröberen ausgefallenen Bestandteilen abgegossen: 1 ccm = 5 mg pulverisierter Tuberkelbacillen. Zur Verdünnung dient 0,8-proz. NaCl-Lösung.

Anfangsdosis bei Menschen subkutan = 0,0025 Bacillensubstanz (d. h. 0,002 ccm des von den Höchster Farbwerken hergestellten Präparates Neutuberkulin-Bacillenemulsion, oder 1 ccm der Verdünnung 1:2000). Reaktion tritt nach dieser Dosis nur selten ein. Rasche Steigerung mit 1—2-tägigen Pausen jedesmal um das Zwei- bis Fünffache, bis Reaktionen mit Temperaturerhöhungen von $1^1/_2$—2° auftreten. Tritt eine solche auf, so sind die Pausen auf 6—8 Tage und länger auszudehnen, je nach dem Ausfall der Agglutinationsprüfung, die etwa 8 Tage nach einer von starker Reaktion gefolgten Einspritzung zur Kontrolle des Immunisierungseffektes vorgenommen wird. Der Agglutinationstiter geht nur unter ständiger Steigerung der Injektionsdosis in die Höhe. Koch steigerte bis 20, in einzelnen Fällen bis 30 mg. Zur besseren Resorption können die größeren Dosen an 2 verschiedenen Körperstellen gleichzeitig injiziert werden. Dosen oberhalb 10 mg erfordern ein 2—4 Wochen langes Pausieren.

Erfolgt Absinken des Agglutinationstiters trotz Steigerung der Dosis, so gelingt es prompt ihn zu erhöhen durch intravenöse Injektion des stark zentrifugierten Präparates, aus welchem alle suspendierten Teile entfernt sind (das Präparat entspricht dem früheren TO). Die Dosis für die intravenöse Injektion beträgt den zehnten Teil der subkutanen Dosis. Da intravenös von den subkutan vorbehandelten Personen bis zu 10 mg in manchen Fällen reaktionslos vertragen wurden, so ist Koch dazu übergegangen, bei der Immunisierung mit der Bacillenemulsion stets an die subkutane die intravenöse Einführung anzuschließen.

Immunisierungsschemata bei Bandelier & Roepke (6. Aufl. 1911, S. 183).

2. Gewinnung von Preßsaft nach Buchner & M. Hahn.

Die Methode ist beschrieben in Bd. I, S. 549. Von den Bakterienpreßsäften (von H. Buchner Plasmine genannt), die als Antigene Verwendung fanden, seien erwähnt:

1. Choleraplasmin. Um es zu erhalten wird der Belag von 30—40 Kolleschalen nach 1—2-tägigem Wachstum (bei 37°) mit Platinspatel oder mit Glaswolle abgehoben. Man erhält 30—35 g feuchte Bakterienmasse, die nun in der in Bd. I geschilderten Weise weiterverarbeitet werden. Das Choleraplasmin erwies sich erst in großen Dosen für Meerschweinchen giftig (Temperaturabfall, Krämpfe, lähmungsartige Schwäche, Tod). Immunisierung von Meerschweinchen: Die Tiere erhielten subkutan oder intraperitoneal in Zwischenräumen von 2—3 Tagen 0,2; 0,5; 1,0; 1,5 ccm und vertrugen dann 8 Tage später die 10-fach tödliche Dosis lebender Kultur. Die Immunität war auch nach 3—4 Monaten noch vorhanden. Nach der Injektion des Plasmins trat Temperatursteigerung und Gewichtsabnahme auf, die Tiere erholten sich gut, einzelne aber gingen bei der Vorbehandlung zugrunde. Nach weiteren Versuchen Hahns immunisierte schon die einmalige Injektion von 0,5—0,6 ccm des Plasmins die Tiere ebenfalls gegen die intraperitoneale 8 Tage und 3—4 Monate später erfolgte Applikation der 10-fach tödlichen Kulturdosis.

2. Das Typhoplasmin vermag Meerschweinchen gegen die intraperitoneale Verabreichung tödlicher Dosen von Typhusbacillen zu schützen. Der Preßsaft wurde von einer mäßig virulenten Kultur hergestellt und mit Glyzerin (20 Proz.) und Kochsalz (5 Proz.) oder mit Chloroform konserviert. Einmalige Injektion von 1 ccm Preßsaft genügte, um den Schutz herbeizuführen. Das Serum eines solchen Meerschweinchens agglutinierte nach $2^1/_2$ Monaten noch 1:2000.

3. Tuberkuloplasmin. Hahn[1] & Bulling benutzten die auf Glyzerinbouillon gewachsenen jungen Häute. Der Preßsaft wurde durch Kieselgur filtriert, oder ohne Filtration durch Zusatz von 20 Proz. Glyzerin und 5 Proz. Kochsalz konserviert. Dies Tuberkuloplasmin zeigte Fermentgehalt, es zerlegte Wasserstoffsuperoxyd, vertrug nicht das Erwärmen auf 60°, ebensowenig Zusatz von Blausäure. Die H_2O_2 zerlegende Fähigkeit trat aber wieder in die Erscheinung, wenn die Blausäure durch Luftdurchleitung und Erwärmen verjagt wurde. M. Hahn & Bulling benutzten dies Plasmin zur immunisatorischen Behandlung tuberkulöser Meerschweinchen (2 Wochen nach der Injektion infizierender Dosen monatelange Behandlung mit steigenden Mengen Plasmin). Die Wirkung war unsicher.

4. Mit Milzbrandplasmin gelang es nicht Immunität hervorzurufen (bei Meerschweinchen), dasselbe gilt für Plasmin aus Staphylokokken (bei Kaninchen).

Einen Preßsaft aus virulenten Tuberkelbacillen verwendet nach Chamberlandfiltration Maragliano als Antigen (Pulpa bacillaris).

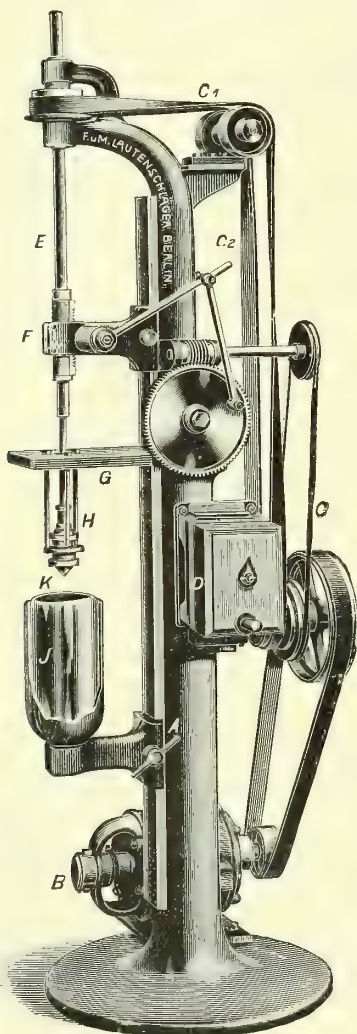


Fig. 8. Zerreibeapparat nach Macfadyen-Rowland.

3. Methode von Macfadyen und Rowland.

Ein von Macfadyen, Morris und Rowland ursprünglich ausgearbeitetes Verfahren diente zur Gewinnung des Zellinhaltes von Hefe, später auch zur Gewinnung von Typhuspreßsäften:

Die Zellmassen wurden mit Silbersand gemischt und in einen Metallzylinder gegeben, dessen Verschluß durch eine vertikale Stahlachse, die seitliche Flügel trug, durchbohrt war. Während das Rührwerk, das eine Drehungsgeschwindigkeit von 5000 in der Minute erzielte, in Tätigkeit war, zirkulierte in dem den Metallzylinder umgebenden Mantel Salzlösung zur Abkühlung. Die Zellen waren nach 3—4 Stunden zerstört. Filtration durch Kieselgur unter Druck. Auslaugung des Rückstandes mit Soda oder Glyzerin, Filtration. Konservierung mit Thymol. Haltbarkeit in der Kälte 4 Monate.

Meerschweinchen zeigten nach Behandlung mit dem fast reaktionslos vertragenen Preßsaft (0,1—1 ccm subkutan oder intraperitoneal) eine 4 Wochen anhaltende Immunität gegen die 6-fache tödliche Dosis von Typhusbacillen. Nachweisbar bei ihnen waren Agglutinine 3 Monate lang, bei Kaninchen 9 Monate lang, bei letzteren Tieren stieg ebenso wie bei Affen auch der bakteriolytische Titer.

Dies Verfahren der Antigengewinnung erforderte große Kulturmassen. Bei einer weiteren Methode, bei der die Verwendung von Sand und Kieselgur in Wegfall kam, reichten Macfadyen & Rowland mit

dem zehnten Teil Bakterienmasse aus. Das im folgenden zu beschreibende Verfahren bedient sich der flüssigen Luft, um die Bakterien bröckelig zu machen und sie dann leichter mechanisch zu zertrümmern.

Sie nahmen 10 Agarkulturen von Typhus (24—30 Stunden alt), schwemmten den Belag mit Kochsalzlösung ab und wuschen die Bacillenmasse durch scharfes Zentrifugieren. Das Sediment brachten sie dann zur weiteren Einengung auf die Oberfläche eines Chamberlandfilters. Es liefert eine Agarflasche 0,15 g Bakterienpaste. Die von der Filteroberfläche abgehobene Paste wird in das Metallgefäß *H* des Zerkleinerungsapparates eingebracht, das in einen Behälter mit flüssiger Luft *K* eingefügt ist. Ein als Doppelkonus geformter metallener Stößer *E* erzielt durch drehende und von oben nach unten drückende Bewegungen, die ein Elektromotor (1/2 HP) oder eine Transmission übermittelt, die Zerkleinerung. 1/2—1 g Bakteriensubstanz werden in 1 1/2—2 Stunden so zerrieben, daß unversehrte Bakterien nicht mehr nachweisbar sind; es resultiert bei —190° C ein trockenes Pulver, das nach Anrühren mit Kochsalzlösung zentrifugiert wird, der Abguß enthält die protoplasmatischen Zellstoffe. Wichtig für Erfolg und Zeitdauer der Zertrümmerung ist der Wassergehalt des Antigens, es darf nur in mäßigem Grade feucht sein (vgl. HELLER).

MACFADYEN & ROWLAND zertrümmerten in ihrem Apparat außer Typhusbacillen auch Streptokokken, Staphylokokken, B. enteritidis Gärtner, Tuberkel-, Diphtherie- und Schweineseuchebacillen. Der Streptokokkensaft tötete Meerschweinchen (intraperitoneal) noch bei 0,1 ccm. Mit dem Staphylokokkensaft, der für Meerschweinchen (intraperitoneal) bei 0,3 ccm noch tödlich wirkte, gelang es, bei Kaninchen durch wiederholte subkutane Einspritzungen ein Serum zu gewinnen, das Meerschweinchen gegen dies intracelluläre Toxin schützte.

Immunisierung von Ziegen mit Extrakten aus Choleravibrionen nach der MACFADYENschen Methode siehe CARRIÈRE & TOMARKIN (zunächst subkutan, dann intravenös), Immunisierung eines Pferdes mit dem gleichen Antigen siehe HEWLETT.

Nach dem gleichen Verfahren gewann F. SCHMIDT Antigene aus Schweinepestbacillen. S. gibt dem einfacheren BRIEGERschen Schüttelverfahren nach vergleichenden Versuchen, die die Gleichwertigkeit der beiden Antigene ergaben, den Vorzug.

Von BARRAT ist das Lyssavirus im Apparat von MACFADYEN & ROWLAND behandelt worden: er fand es nach 5 Minuten langer Bearbeitung noch unzerstört, hingegen war es meist nach 1/2 bis 1 Stunde, stets aber nach 3 Stunden, nicht mehr infektiös. Nachprüfung durch HELLER, der mit solchem toxischen Material Kaninchen immunisieren konnte.

4. Verfahren nach R. BASSENGE und M. MAYER.

In Anlehnung an das Verfahren MACFADYENS haben BASSENGE & MAYER[1] sich ebenfalls der flüssigen Luft bedient:

Typhusbakterienmaterial von 6—8 Agarflaschen (Gesamtfläche 200 qcm, Bebrütung 24—36 Stunden bei 37°) wird mit wenig Bouillon abgeschwemmt, so daß die Masse eine sirupartige Konsistenz hat (eventuell durch Zentrifugieren Volumen verringern). Uebergießen in Mörser mit flüssiger Luft. Die Eisklumpen werden mit dem Pistill zertrümmert, nach jedesmaligem Auftauen 3—4mal wiederholen. Schließlich Filtration durch Pukallfilter. Wegen der Schwierigkeit, manuell die harten Eisklumpen genügend zu zertrümmern, wurde das Verfahren dahin abgeändert, daß die von den Agarflächen abgehobenen Kulturmassen vor dem Einfrieren möglichst wasserfrei gemacht wurden; sie wurden hierzu in flachen Glasschalen auf 1—2 Tage dem Exsikkator (Zimmertemperatur) übergeben, bis sie zu leicht abbröckelnden Massen eingetrocknet waren. (Vorsicht! Infektionsgefahr!) Nun wie oben; Uebergießen mit flüssiger Luft, Zertrümmern mit Pistill, Wiederholung 3—4mal. Filtration (nach Auf-

schwemmung) durch Pukall. Die trockenen Bakterienmassen können auch vor dem Einfrieren mit der gleichen Menge sterilen Quarzsandes vermischt werden, der dann vor der Filtration durch Zentrifugieren zu entfernen ist. In jedem Fall ist keimfreie Filtration nötig, da einzelne Typhusbacillen alle diese Prozeduren überleben. Es resultiert eine Lösung, die erst nach mehrfacher Eindickung im Exsikkator in der Dosis von 1 ccm für Meerschweinchen (2—300 g) toxisch wirkte. Ein Kaninchen reagierte auf Injektionen von 1,0, 1,5, 2,0, 3,0 und 5 ccm (innerhalb von 11 Tagen) mit Erhöhung des Agglutinationstiters auf 1:100. Bakterizider Titer 0,05 (gegen die 3—4-fach tödliche Dosis).

Durch Typhusserum wird die Flüssigkeit präzipitiert. Das Gift verlor nach 4 Wochen bedeutend an Wirksamkeit.

In ganz ähnlicher Weise hat Lüdke[2, 3] das Macfadyensche Verfahren modifiziert.

Lüdke schwemmte 1-tägige Agarkulturen von Dysenterie (Shiga-Kruse) mit wenig Kochsalzlösung ab und trocknete im Vakuumexsikkator bei Zimmertemperatur. Er erhielt von 100—250 qcm Agarfläche meist ca. 0,1 g Trockenmasse. Im übrigen wie oben. Die zertrümmerte Masse (die noch vereinzelte intakte Ruhrbacillen enthielt) wurde mit 20—40 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt. 0,5—0,2 ccm töteten Kaninchen (1500 g) in 18—24 Stunden (intravenös), Meerschweinchen starben nach 0,5—0,1 ccm (intraperitoneal). Die Symptome bei den Tieren waren die gleichen wie die nach Einspritzen von lebenden oder toten Dysenteriebacillen erhaltenen, hingegen wirkte das Präparat schneller tödlich. Das Präparat besaß eine schlechte Haltbarkeit, schon nach 8 Tagen (Eisschrank) war die Giftigkeit stark vermindert. Nach den — nicht sehr zahlreichen — Immunisierungsversuchen waren im Blutserum der behandelten Kaninchen bakterizide oder antitoxische Körper nicht zu finden.

Eine neue Zerreibungsmaschine für Bakterien und Hefezellen beschreiben Barnard & Hewlett.

V. Methoden der aktiven Immunisierung gegen Bakterienstoffwechselprodukte (Toxine).

Eine präzise Abgrenzung der Methoden der Immunisierung mit Stoffwechselprodukten gegenüber den im vorigen Abschnitt behandelten ist nicht in jedem Falle möglich; ein Medium, das die Produkte der Lebenstätigkeit von Bakterien enthält, kann auch Bestandteile von aufgelösten Bakterienleibern enthalten, wie umgekehrt die meisten Methoden zur Gewinnung von Bakterienleibern oder von protoplasmatischen Stoffen damit zu rechnen haben, daß in dem so erhaltenen Antigen auch Beimengungen von Sekretionsprodukten vorhanden sein können. Nur in den allerseltensten Fällen hat man bisher bei der Verwendung von Bakterienzellen für Immunisierungszwecke die Bakterienzelleiber von anhaftenden Abscheidungsstoffen getrennt, und es existiert andererseits keine Methode, die eine vollständige Isolierung der von der lebenden Bakterienzelle abgeschiedenen Produkte von den Auslaugungsstoffen, die aus den toten Zellen frei werden, ermöglichte. Es ist aber keineswegs ausgeschlossen, zu einer solchen Methode zu gelangen, dazu sind eingehende Untersuchungen über die Wachstumsbedingungen der einzelnen Arten nötig, man wird dann nicht nach den bisher in erster Linie für die Bakterienzüchtung maßgebenden Gesichtspunkten, große Ernten in kurzer Zeit zu erzielen, verfahren dürfen, wobei eben nach der bisherigen Methodik auch ein stärkeres Absterben der Zellen eintreten muß, sondern man wird darauf ausgehen müssen, die Bedingungen für das Absterben auszuschalten: in systematischer Weise ist das noch nicht geschehen, wäre aber für die Lösung prinzipieller Fragen sehr wünschenswert.

Vorläufig wird man eben aus praktischen Gründen daran festhalten, daß eine Gruppe von Bakterien im Nährsubstrat reichliche Mengen stark toxischer Produkte liefert, denen gegenüber etwaige durch Zellzerfall frei werdende Giftsubstanzen gar nicht in Betracht kommen; daß umgekehrt eine andere Gruppe von Bakterien nachweislich keine oder nur minimale Mengen von toxischen Stoffen ausscheiden, deren Wirksamkeit im antigenetischen Sinne praktisch zu vernachlässigen ist gegenüber der Giftnatur der protoplasmatischen Stoffe; es ist aber auch zu betonen, daß endlich noch andere Gruppen von Bakterien eine Mittelstellung einnehmen und nach der einen oder anderen Seite hinneigen.

Die Schwierigkeit der Gliederung wird aber noch erhöht, wenn wir die Verhältnisse im Organismus berücksichtigen: es ist ja sicher, daß einzelne Giftstoffe — und das sind wohl die für die Antikörperbildung wichtigsten — erst bei Kontakt des Antigens mit dem lebenden Organismus entstehen: es ist dann gar nicht der eingeführte Impfstoff das Antigen, sondern das die unmittelbare Antikörperbildung auslösende Antigen entsteht erst im geimpften Organismus. Man muß dann wieder unterscheiden, ob dies im Körper entstandene Antigen in der Hauptsache aus Körperbestandteilen oder aus Derivaten des Impfstoffs besteht, ob das Wesentliche für diese erst vom Körper zu vollziehende Antigenpräparierung die entstehenden bakteriellen Stoffwechselprodukte, die beim Auflösen der Bakterienzellen freiwerdenden Stoffe usf. darstellen —, es scheint, daß gerade diese Fragen weiterer Vertiefung bedürfen, ehe mit der Immunisierung gegen bestimmte Infektionserreger oder deren Gifte weitere Erfolge zu erzielen sind. Vielleicht hat man doch zu schematisch das Antigen zumeist nur in den künstlichen Kulturen gesucht, die Methodik müßte auch hier mehr den von der Natur gewiesenen Wegen folgen.

Im folgenden sollen zunächst die allgemeinen Gesichtspunkte für die aktive Immunisierung gegen bakterielle Toxine kurz erörtert werden, wobei wir die oben skizzierte erste Gruppe berücksichtigen, deren Vertreter als Bildner echter Ektotoxine aufzufassen sind.

Antigendarstellung.

Nährsubstrate und Kulturbedingungen.

Da es sich bei diesen Methoden darum handelt, Sekretionsprodukte der Bakterienzelleiber zu erhalten, so dienen für die Gewinnung der Antigene fast ausschließlich flüssige Nährsubstrate: Das flüssige Medium nimmt die von den vegetierenden Bakterien abgeschiedenen Produkte auf und kann dann von den zelligen Elementen befreit werden. Seit den ersten Anfängen der Immunisierungstechnik verwendet man für diese Giftgewinnung in erster Linie die übliche Fleischwasserbouillon, neutral oder schwach alkalisch, mit Zusatz von 1 Proz. Pepton und 0,5 Proz. Kochsalz.

In manchen Fällen ist es nötig, dem Nährsubstrat eine präzise Reaktion zu geben. Da der Lackmuspunkt ein labiler ist, so geht man für diese Fälle vom Phenolphthalein-Neutralpunkt aus: man stellt sich zunächst Bouillon mit der natürlichen Säure her, entnimmt ein Teilquantum und bestimmt dessen Acidität nach Zusatz von mehreren Tropfen Phenolphthalein durch Titration mit $n/_{10}$ NaOH. Zweckmäßig erhitzt man die Bouillon vorher zum Kochen. Kennt man die

Acidität der Bouillon, so kann man nun jeden wünschenswerten Grad der Reaktion herbeiführen. Da beim Sterilisieren der mit Alkali ($NaOH$, Na_2CO_3) versetzten Bouillon Salze ausfallen, so pflegt man nachher die Bouillon nochmals zu filtrieren. In manchen Fällen scheint es aber vorteilhafter zu sein, die abgeschiedenen Salze in der Bouillon zu belassen. — Es hat sich mehr und mehr herausgestellt, daß die Reaktion des Nährsubstrats für die Giftbildung von großer Bedeutung ist, eine fehlerhafte Reaktion kann auch einen sonst vorzüglichen Nährboden minderwertig machen, auch das Umgekehrte wird bei der Toxindarstellung beobachtet. Es ist aber nicht angängig, wie das vielfach geschehen ist, die Reaktionsfrage loszulösen von den anderen die Toxinbildung beeinflussenden Faktoren: man kann immer nur sagen, die Toxinbildung ist bei den bestimmten Reaktionsgraden innerhalb der gerade zum Versuch benutzten Nährböden und unter den sonstigen Versuchsbedingungen die gefundene; bei Variation auch nur eines Faktors muß unter Umständen bei Wiederholung des Versuchs die Reaktion modifiziert werden. Hier fehlen noch systematische Untersuchungen.

Es ist aber nicht nur die Anfangsreaktion zu berücksichtigen, sondern man muß die Kenntnis der Reaktionskurve besitzen, da die stärkste Giftausbeute meist gerade nur bei einem bestimmten Reaktionsgrade geerntet werden kann, vor- oder nachher ist das Gift schwächer. Ein Beispiel hierfür bietet die Diphtheriebouillon (s. Bd. V). — Die Reaktionskurve richtet sich in erster Linie bei den einzelnen Arten nach der Zusammensetzung des Nährbodens: enthält dieser vergärungsfähiges Material, so kann durch die entstehende Säure das Toxin geschädigt werden. Man vermeidet daher in der Regel die Zugabe von bestimmten Kohlehydraten und ist auch darauf ausgegangen, den etwaigen Muskelzucker des Fleischwassers zu entfernen (s. u. Th. Smiths Bouillon). Pferdefleischwasser gilt des höheren Glukosegehaltes wegen als wenig geeignet.

Zur Abstumpfung entstehender Säure setzt man der Nährlösung Calcium- oder Magnesiumkarbonat zu, z. B. feingepulverte Kreide etwa 2 g pro 100 ccm Bouillon.

Da es festgestellt ist, daß auf eiweißfreien Substraten nur geringe und schwankende Mengen von Gift gebildet werden, so hat man auf die Zugabe von Eiweiß von jeher das Augenmerk gerichtet. Es sind aber gerade in dieser Beziehung die Angaben der Autoren wenig verläßlich, weil man früher die Verschiedenheit der Giftbildung einzelner Stämme der gleichen Bakterienart und das Schwanken der Giftausbeute bei Variation der verschiedenen anderen Züchtungsbedingungen nicht genügend berücksichtigt hat. So ist noch keine Einigkeit erzielt über die günstigsten Eiweißpräparate, über ihre Dosierung usf. Daß man mit Benützung von Fleisch keine in jedem Falle vergleichbaren Nährböden erhält, ist bekannt, weniger bekannt, daß die einzelnen Peptonpräparate keineswegs einheitliche Zusammensetzung aufweisen. Im einzelnen muß auf die spezielle Darstellung verwiesen werden, hier seien von besonderen, für die Giftgewinnung empfohlenen Nährlösungen genannt:

1. Th. Smiths Bouillon [Entfernung des Muskelzuckers*)]. Das von Sehnen und Fett befreite Fleisch wird zerkleinert, mit der doppelten Gewichtsmenge Wasser übergossen und 1 Tag lang bei ca. 10° C stehen ge-

*) Nach gütiger persönlicher Mitteilung Smiths.

lassen. Filtration durch Gaze (auspressen). An einem Teilquantum des Filtrates wird die Acidität (Phenolphthalein, Natronlauge) bestimmt, danach so viel Natronlauge zu dem übrigen Filtrat hinzugegeben, daß 1,5 Proz. Acidität (Phenolphthalein) besteht. Nach Sterilisation Zugabe von 1-tägiger Colibouillon, die Mischung im Wasserbad auf 37° vorwärmen, dann Einstellen in den Brutschrank (37°) auf 5—10 Stunden (je nach dem mutmaßlichen Zuckergehalt des Fleisches). Danach Zusatz von 1 Eiklar (pro 1 Liter Bouillon), im kochenden Wasserbad halten bis zur Koagulation, filtrieren durch Filterpapier. Ersetzen des Wasserverlustes. Neutralisieren mit NaOH bis zur Acidität 0,5 Proz. Zugabe von 1 Proz. Pepton (bei Diphtheriebouillon 1—2 Proz. Pepton), 0,5 Proz. NaCl. Zum Schluß Zusatz von 0,1 Proz. Dextrose (steril).

Nach 20 Minuten langer Sterilisierung im strömenden Wasserdampf Kontrollierung der Acidität, die eventuell wieder auf 0,5 Proz. gebracht werden muß, Filtrieren durch Filterpapier, Auffüllen auf Fernbachflaschen. 20 Minuten bei 120° sterilisieren (zweckmäßig ist es, vor dem Einsetzen in den Autoklaven Kontrolle der Abwesenheit von Muskelzucker durch Auffüllen von der vergorenen Bouillon (ohne Dextrose) auf Gärungskölbchen vorzunehmen, nach Sterilisieren Einsaat von B. coli. 2 Tage 37°. TH. SMITH empfiehlt für die Toxingewinnung von Diphtheriestämmen, die sehr starke Kahmhäute bilden und die Bouillon sehr rasch alkalisieren (Bacillus 8 Diphtherie PARK und WILLIAMS) 0,2 Proz. Dextrose (statt 0,1 Proz.) zuzugeben.

2. Die MARTINsche Bouillon, eine Mischung von einer Peptonlösung, die durch Selbstverdauung von Schweinemagen erhalten wird, mit einem nicht mehr verdauungsfähigen Fleischinfus (L. MARTIN).

a) Bouillon aus Schweinemagen. Die Mucosa und Muscularis von 5 Schweinemagen werden gut zerkleinert, hiervon nimmt man 200 g, fügt 10 g Salzsäure (20-proz.) und 1 Liter 50° warmen Wassers hinzu; man hält die Mischung bei 50°, nach $^1/_2$—1 Tag ist durch das Pepsin alles Gewebe in Pepton übergeführt (man kann für manche Bakterien den Nährboden noch verbessern, wenn man noch andere Organe: Lunge, Placenta, Muskelfleisch etc. hinzufügt und der Digestion überläßt). Es folgt Erhitzung auf 100° zur Zerstörung des Pepsins, Filtration durch (wenig) Watte. Das Filtrat erhitzt man auf 80°, alkalisiert mit Natronlauge und filtriert durch Fließpapier.

Das so erhaltene Pepton ist den in ihrer Zusammensetzung sehr schwankenden Handelspeptonen vorzuziehen. Die Lösung ermöglicht allein schon Toxingewinnung, z. B. bei Diphtheriebacillen, sie wirkt noch günstiger, wenn man zu 1 Liter 2 Gramm Essigsäure vor der Alkalisierung hinzugibt, die günstigste Giftausbeute aber erhält man durch Vermischen mit einem

b) Kalbfleischwasser (Modifikation des Verfahrens von SPRONCK). 500 g zerkleinerten Kalbfleisches werden mit 1 Liter Wasser vermischt und 20 Stunden bei 35° aufbewahrt, hierdurch kommt es zur Zersetzung des Muskelzuckers (SPRONCK, ROUX u. a. erreichen das durch Einimpfen von Hefe). Das Fleischwasser wird dann abgepreßt, mit 0,5 Proz. NaCl versetzt und zu gleichen Teilen der Schweinemagenpeptonlösung zugesetzt: Die Mischung erwärmt man auf 70°, bis die Albumine gerinnen. Filtration, Alkalisierung (mit NaOH zur Lackmusneutralität, danach noch Zusatz von 7 ccm n-NaOH, nach PARK & WILLIAMS). Filtration durch Chamberland. Nach MARTIN gibt die nur auf 70° erhitzte Lösung ein besseres Resultat, als die auf 120° erhitzte, besser ist dreimaliges Sterilisieren bei 100°.

3. Hefenährböden von SPRONCK (Diphtherietoxin), beschrieben auch bei C. OPPENHEIMER [2].

4. Ascitesbouillon, die v. DUNGERN [5] für Diphtheriegiftgewinnung empfohlen hatte, lieferte in den Versuchen MADSENS sehr ungleichmäßige Resultate.

5. Nährboden von GRASSBERGER & SCHATTENFROH (für Rauschbrandgift).

A. 10 g Pepton,
5 g Kochsalz,
5 g Fleischextrakt Liebig.

lösen in 1000 ccm Wasser, kochen, neutralisieren (nicht filtrieren). An vier aufeinanderfolgenden Tagen je $^3/_4$ Stunden im Dampftopf sterilisieren.

B. 50 g Stärkezucker oder gereinigte Dextrose,
50 ccm Wasser

bei 3 Atm. $^3/_4$ Stunde sterilisieren.

750 ccm Lösung A werden vermischt mit 50 ccm Lösung B in 1 Liter-Erlenmeyer, Zusatz von reichlicher Menge dickflüssiger, sterilisierter Schlemmkreide. 1 Stunde im Dampf sterilisieren, danach überschichten (3 cm hoch)

mit Paraff. liquidum (bei 4 Atmosphären sterilisiert), $^1/_2$ Stunde sterilisieren, rasch Abkühlen auf 37°, impfen mit lebhaft gärender junger Kultur. —

6. Für die Gewinnung von Botulinustoxin empfiehlt TCHITCHKINE Schweinebouillon (500 g Fleisch auf 1 Liter Wasser), die mit 1 Proz. Pept. Chapoteaut, 0,5 Proz. NaCl, 1 Proz. Glukose und ein wenig Calciumkarbonat versetzt ist. Die Bouillon bringt er in Kolben mit langem Hals, für die anaërobe Haltung gibt er eine dünne Schicht flüssiges Vaselin auf (oder Züchtung unter Wasserstoff). Sterilisierung 3mal bei 100° $^1/_2$ Stunde. Züchtung bei 20° 2—4 Wochen. Die Botulinusstämme verhalten sich aber verschieden. LEUCHS erhielt mit einem Stamme auf dieser Bouillon ein starkes, mit einem anderen ein sehr schwaches Gift. Der letztere Stamm bildete auf einer Traubenzucker-Pepton (Chapot.)-Rindfleischbouillon mit starker Alkalinität (4,8 ccm $n/_1$ Sodalösung auf 100 ccm natürlich saure Bouillon) ein akut wirksames Gift.

7. KRAUS[2, 3] empfiehlt für die Giftgewinnung aus Cholerakulturen (auch El Tor-Vibrionen) eine Bouillon, die im Liter 2,4 ccm 5-proz. Natronlauge über den Phenolphthalein-Neutralpunkt enthält. (Peptonum Witte $1^1/_2$ Proz., Kochsalz $^1/_2$ Proz.). Genauere Vorschrift s. Handbuch von KRAUS-LEVADITI, Bd. 1, S. 187, sowie [2].

8. Nährboden von BRAU & DENIER (für Choleragiftgewinnung).
90 ccm normales, 3 Wochen altes Pferdeserum }
10 „ defibriniertes, 3 Wochen altes Pferdeblut } 3 Stunden auf 60° erwärmt. Reichliche Einsaat von Kultur. 7 Tage bei 38° aufbewahren. Filtration (Papier, dann Chamberland-F, oder Berkefeld.)

9. Nährböden von SALIMBENI (Choleragift). Peptonwasser (MARTINsche Lösung, 200 g Schweinemagen in 1 Liter Wasser + 10 ccm reine Salzsäure); 2 Proz. Gelatine, 1 Proz. Kochsalz, Erhitzen zum Lösen der Gelatine, Alkalisieren bis Lackmusneutralpunkt, dann 12 ccm Normalsodalösung pro Liter hinzufügen. 20 Minuten auf 115° erhitzen, Papierfiltration, auffüllen auf Flaschen, 20 Minuten bei 110—112° sterilisieren. Zu dem erkalteten Nährboden 25 Proz. Pferdeserum hinzugeben (das 3 Wochen alt sein soll und mindestens 1 Woche mit dem Blutkuchen im Kühlraum gestanden hat). Auffüllen zu je 50 ccm in ROUXsche Flaschen, 3 Stunden bei 60° erhitzen. Einsaat von jungen (16—18 Stunden alten) Agarkulturen. Die Flaschen sind während der ersten 4 Tage täglich einmal zu schütteln. Am 6.—7. Tage filtrieren durch steriles Fließpapier, danach Chamberland oder Berkefeld.

10. Für die Hämotoxingewinnung bei pyogenen Staphylokokken empfehlen NEISSER & WECHSBERG eine Bouillon, welcher von der zur völligen Neutralisierung (Indikator Phenolphthalein) notwendigen Menge Alkali nur $^1/_3$ (höchstens $^1/_2$) zugesetzt ist. Als Alkali benutzten sie ein Gemisch von Normal-Kali- und Normal-Natronlauge zu gleichen Teilen, das für die Aciditätstitrierung im Verhältnis 1:10 mit Aqua dest. verdünnt wird. (Staphylolysinbildung am reichlichsten zwischen 9. und 13. Tag.)

Ueber den Sauerstoffbedarf lassen sich allgemeine Angaben nicht machen, es richtet sich das ganz und gar nach der Eigenart der betreffenden Bakterien: es scheint, daß man hierauf auch noch zu wenig Rücksicht genommen hat, schon aus den vorliegenden Beobachtungen ist zu folgern, daß man nicht nur die beiden üblichen Methoden der Züchtung unter Luftzutritt und Luftabschluß zur Giftgewinnung in Anwendung bringen darf, sondern daß zunächst einmal erst systematisch die Bedingungen der Sauerstoffspannung festgestellt werden müssen, bei welchen unter sonst gleichbleibenden Verhältnissen die stärksten Gifte sich nachweisen lassen. Nach Versuchen von ROUX kann es vorteilhaft für die Toxingewinnung sein, reichliche Luft zu dem Kulturkolben zutreten zu lassen: er nahm Fernbach-Kolben, durch deren seitliche Oeffnung filtrierte und angefeuchtete Luft mittels Wasserstrahlluftpumpe durchgesaugt wurde.

Natürlich darf auch dies Verfahren nicht verallgemeinert werden, da bestimmte Toxinarten bei reichlichem Kontakt mit Sauerstoff geschädigt werden. Ein bequemes Mittel zum Züchten unter reichlichem Luftzutritt ist das Züchten in flacher Schicht (2—3 cm) in Flach-

kolben, wie sie die Jenaer Glaswerke Schott u. Gen. liefern. M. HAHN züchtete Choleravibrionen in $1^1/_2$ cm hoher Schicht 5—6 Tage bei 36° zur Giftgewinnung.

Bei einzelnen Keimarten ist sichergestellt, daß sie die stärksten Gifte erzeugen, wenn es zur Kahmhautbildung kommt (Diphtherie· v. BEHRING, Dysenterie SHIGA-KRUSE: DOERR, KOLLE, HELLER und V. DE MESTRAL.

Für die Giftgewinnung bei anaëroben Bakterien bedient man sich der in Bd. I S. 433 geschilderten Züchtungsverfahren. Aus den oben angeführten Gründen vermeidet man meist den Zuckerzusatz zur Bouillon.

Seit den Beobachtungen von TH. SMITH, TAROZZI, WRZOSEK u. a. sind die Verfahren zur Giftgewinnung bei Anaëroben wesentlich vereinfacht worden, da diese auch bei Luftzutritt erfolgt. Von den mannigfachen Modifikationen sei die von M. v. EISLER hervorgehoben: Das bei der Bouillonherstellung auf dem Koliertuch bzw. Filter zurückbleibende zerkleinerte Fleisch wird in die Kulturgefäße übertragen ($^1/_2$—1 cm hohe Schicht), dann mit Bouillon übergossen. Sterilisation, bald nach Abkühlung Impfung. Bei Impfung mit Tetanus ergab nach 14-tägiger Bebrütung, Abgießen und Filtration (zunächst Papier, dann Pukall) das aus dem Filtrat gewonnene Trockengift eine tödliche Toxizität für weiße Mäuse in der Menge von 0,01 bis 0,02 mg.

Die Frage, bei welcher Temperatur das für Immunisierungszwecke brauchbare Gift in Kulturen gebildet wird, ist noch nicht erschöpfend bearbeitet worden. In der Regel züchtet man bei Körperwärme. MADSEN macht darauf aufmerksam, daß diese Temperatur aber nicht indifferent für das Gift ist und daß kleine Abweichungen nach oben (1° C) schon erhebliche Abschwächungen des Giftes herbeiführen. Es ist deshalb unter Umständen die Temperatur von ca. 35° vorzuziehen. Bei toxigenen Saprophyten (Botulinus) geht man noch weiter herunter (28—30°).

Schon aus dem Verhalten der Gifte den Temperaturen gegenüber, aber auch aus anderen Erfahrungen geht hervor, daß durchaus nicht immer Wachstumsoptimum und Erzeugung maximaler Giftmengen zusammenfallen: es ist sogar vom biologischen Standpunkt aus unwahrscheinlich, daß das auch nur die Regel bilde. LUBOWSKI hat einen sehr stark wachsenden Diphtheriestamm beschrieben, der keine Toxizität und keine Virulenz besaß. Hier wären systematische Untersuchungen am Platze. Zu berücksichtigen ist, daß bei dem Obwalten optimaler Wachstumsbedingungen eben auch schon frühzeitig autolytische Vorgänge sich einstellen, daß also die Summe von Gift, die man unter solchen Bedingungen erhält, zweifachen Ursprungs sein kann. In vielen Fällen kann aber nach Anwendung von wachstumsfördernden Mitteln auch ein stärkeres Toxin gebildet werden, das aber sofort Modifizierung oder Zerstörung erfährt und deshalb nicht in dem vollen Maße in die Erscheinung tritt. Das bekannteste, schon oben hervorgehobene Beispiel hierfür ist die Luftzufuhr: sie steigert gewiß eine Zeitlang das Wachstum der Diphtheriebacillen und auch die Toxinproduktion, von einem bestimmten Zeitpunkte ab aber kreuzen sich die Kurven, trotz Fortschreitens des Wachstums bei reichlicher Luftzufuhr vermindert sich das Gift.

Auch Virulenz und Giftbildung gehen nicht immer parallel, Stämme, die stärkere Virulenz besitzen, sezernieren nicht immer in gleichem Maße stärkeres Gift.

Es ist noch hervorzuheben, daß auch in der Gruppe der echten Toxinbildner weitgehende Stammesverschiedenheiten vorkommen, oft muß man Dutzende von Stämmen (Diphtherie!) isolieren, ehe man einen für die Giftgewinnung geeigneten Stamm auffindet.

Für die Zwecke der Immunisierung ist auch darauf Rücksicht zu nehmen, ob es sich um ein einheitliches oder ein komplexes Gift oder um das Nebeneinander mehrerer toxischer Körper handelt (Tetanospasmin, Tetanolysin usf.).

Will man Gifte von vergleichbarer Beschaffenheit gewinnen, so sind alle Versuchsbedingungen gleichmäßig zu gestalten: Abgemessene Nährlösungen der gleichen Zusammensetzung sind in Glaskolben von gleicher Größe und Glasbeschaffenheit (es empfiehlt sich, Jenaer Glas zu nehmen) die gleiche Zeit im Sterilisator zu halten, sodann mit gleichen Mengen Kultur gleichzeitig zu impfen und unter denselben Bedingungen zu halten. Offenbar aber sind für die Intensität der Giftbildung mitunter noch Faktoren im Spiele, die wir nicht beherrschen: denn trotz anscheinend pedantischer Innehaltung gleicher Bedingungen kann die Giftausbeute in den einzelnen Kulturkolben schwanken. Daß auch die einzelnen Stämme bei weiterer Fortzüchtung in den Kulturensammlungen in ihrem Giftbildungsvermögen Unregelmäßigkeiten aufweisen, ist immer zu beobachten. Von einigen Autoren (Madsen usf.) wird sogar berichtet, daß toxische Stämme in ein latentes Stadium übergehen können, während dessen sie auf keine Weise zur Giftbildung zu veranlassen sind, bis sie plötzlich wieder Gift produzieren, ohne daß die Autoren einen plausiblen Grund hierfür finden konnten.

Berücksichtigt man solche von zuverlässigen Autoren erhobene Beobachtungen, so wird man die Resultate vieler bisherigen Versuche über die Giftbildung unter verschiedenen Bedingungen nur mit großer Zurückhaltung beurteilen dürfen, es gibt auch kaum ein anderes Gebiet, auf welchem so differente Ergebnisse bei Nachprüfungen zutage traten, wie auf dem der Toxingewinnung.

Eine nicht ganz sichere Stellung nimmt das sogen. „Waschwassergift" ein, das neuerdings vielfach zur Immunisierung verwendet wird: es enthält sicher Stoffwechselprodukte der auf der Agarfläche gewachsenen Mikroben, inwieweit es aber gleichzeitig eine Beimengung ausgelaugter Zellbestandteile, ferner Extraktionsstoffe, die sich der Aufschwemmungsflüssigkeit mitteilen, in sich schließt, ist noch nicht zu übersehen.

Man stellt es z. B. von Dysenteriebacillen her, indem man 1-tägige Massenkulturen (Kolleflaschen mit Oberfläche von 200 ccm) mittels 30 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung abschwemmt, 15 Minuten bei Zimmertemperatur stehen läßt (Kraus[5] läßt eine Stunde lang stehen), scharf zentrifugiert und durch Berkefeld filtriert.

Kolle-Heller-de Mestral halten dies so gewonnene Gift, das in Analogie zu dem Bouillongift zu setzen ist und vielleicht mit ihm identisch ist, für eine Mischung von Toxin und Endotoxin, vgl. hierzu Doerr[2].

Auch das Hämotoxin der pyogenen Staphylokokken läßt sich durch das gleiche einfache Abschwemmverfahren gewinnen.

H. OPPENHEIMER suspendiert den Belag von 1-tägigen Agarkulturen (Flachkolben KOLLE) in je 10 ccm Kochsalzlösung und zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wird mit Karbolglyzerin (Karbol 10,0; Glyzerin 20,0; Aqua dest. 70,0) auf 0,5-proz. Karbolsäuregehalt gebracht. Man kann auch die Abschwemmung keimfrei filtrieren. 40 Stunden lange Digestion der Aufschwemmung bei 37° ergibt keinen Vorteil. Man reicht auch aus mit Aufschwemmung von 3 Agarröhrchen in 4—6 ccm NaCl-Lösung.

Einer originellen Methode zur Gewinnung bakterieller Stoffwechsel- (und Auslaugungs-)produkte bediente sich HAENTJENS, der eine mit Tuberkelbacillenkultur versehene Maaßenfilterkerze in destilliertes Wasser einstellte und das Ganze 2—4 Wochen bei 37° hielt („Filtrase").

Gewinnung von Anaphylatoxin s. bei DOERR, dieser Band.

Gewinnung von Kenotoxin s. Bd. I.

Ehe die Bakteriengifte als Antigene dem Körper eingeführt werden, sind die noch lebenden Bakterienzellen auszuschalten oder zu beseitigen.

a) Abtötung der toxinbildenden Bakterien.

Man wählt einen Zusatz, der die lebenden Bakterien abzutöten vermag, ohne das Gift in erheblicherer Weise zu schwächen.

Bei Anwendung dieses Verfahrens ist zu berücksichtigen, daß die Giftlösung nicht nur das Toxinantigen, sondern auch die toten suspendierten Bakterienzellen enthält, die bei Einführung in den Organismus dem Abbau unterliegen, damit eine chemische Wirkung vollführen und unter Umständen ihrerseits als Antigen fungieren können.

Abtötungsmittel:

1. Karbolsäure. Man setzt sie z. B. zu 0,5 Proz. zur Diphtheriebouillon (5 ccm Karbolsäure auf 1 Liter), schüttelt gut und läßt 2 Tage stehen, danach gießt man die klare Lösung von dem Bodensatz ab. Man kann auch durch Papierfilter filtrieren: bei Diphtheriebouillon stören die etwa beigemengten kleinen Mengen toter Bacillenleiber nicht.

2. Für Hämotoxine (bei Pyocyaneus, Streptococcus pyogenes) verwendet man Karbolglyzerin (Karbol 10,0, Glyzerin 20,0, Aqu. dest. 70,0, davon 5 Teile zu 95 Teilen der hämotoxinhaltigen flüssigen Kultur, NEISSER & WECHSBERG).

Die Abtötung der Bakterien bei diesem Verfahren wird um so sicherer sein, je weniger Bakterienzellen in der Kulturflüssigkeit noch vorhanden sind: man wird vor dem Zusatz des Abtötungsmittels möglichst viele Zellen durch Zentrifugieren und Filtrieren durch dickes Fließpapier (oder mehrfache Lagen von Filterpapier) entfernen.

3. Abtötung durch Toluol (Diphtherietoxin, Pyocyaneustoxin etc.). Nach R. OTTO werden die Kolben, die die gifthaltige Bouillon enthalten, mit einer $1^1/_2$—2 cm dicken Schicht von Toluol überschüttet, während 2—3 Tagen mehrmals täglich gut geschüttelt und dann noch zwei Tage stehen gelassen. Nach dieser Zeit sind z. B. alle Diptheriebacillen abgetötet, das Toluol sammelt sich über dem Gift an.

Auch hier wird man von vornherein darauf bedacht sein, die große Masse der Bakterienzellen vor der Zugabe des Antiseptikums zu

entfernen, um eine sichere Sterilisierung herbeizuführen. Bei Diphtherie gelingt das schon dadurch, daß man die in den Kulturkolben gewachsenen Häute durch Schütteln zum Absitzen bringt, dann die klare Bouillon vorsichtig abgießt, so daß die Hauptmasse der Bakterien im Kulturkolben zurückbleibt.

b) Ausschleudern und Ausfällen.

1. Das Ausschleudern ist insofern das idealste Mittel, die Bakterien von den sezernierten Giften zu trennen, als hier das Gift in völlig unverminderter Menge und unveränderter Beschaffenheit zu gewinnen ist. Die Leistungsfähigkeit der Zentrifugen ist aber noch nicht so weit erhöht, daß man dieses Verfahren der Gifttrennung allgemein anwenden könnte. Die in Betracht kommenden Zentrifugen sind sehr teuer. Uebrigens verhalten sich die einzelnen Bakterienarten beim Zentrifugieren sehr verschieden, die Art der Nährlösung ist auch von Bedeutung für das leichtere oder schwerere Ausfallen. Systematische Versuche, das Ausschleudern durch Zusatz indifferenter Stoffe zu erleichtern, stehen noch aus.

Man hat sich dem Zentrifugieren der Giftlösungen namentlich dann zugewandt, wenn durch andere Methoden eine zu weitgehende Verminderung der Giftigkeit eintritt oder wenn schwer abtötbare Sporen (Tetanus) von dem Gift zu trennen sind; diese sind durch Desinfizientien relativ starker Konzentration noch nicht zugrunde gerichtet zu einer Zeit, in der das Gift durch diesen Zusatz schon stark beschädigt oder zerstört ist.

2. Ausfällung durch chemische Mittel, kombiniert mit Ausschleudern.

Für die Befreiung der Tetanusgiftbouillon von ihren Sporen wählte das Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (siehe R. Otto, Die staatliche Prüfung etc. S. 52) das Ausfällen mit Ammonsulfat.

Nach der ersten Ausfällung wird das frisch gewonnene Gift sofort wieder in Kochsalzlösung gelöst und eine Stunde scharf zentrifugiert (4000 Touren in der Minute), nach Abgießen der klaren Flüssigkeit wird diese nochmals mit Ammonsulfat behandelt, wieder lösen und zentrifugieren. Das muß drei- bis viermal wiederholt werden. Das auf Tontellern im Vakuum getrocknete Gift enthält dann meist nur vereinzelte Sporen, enthält es reichlichere Mengen, so ist Fällen und Ausschleudern zu wiederholen.

Zu den Ausfällungsverfahren gehört auch die Anwendung von Klärpulvern, die mit Filtration kombiniert und daher unten besprochen werden.

c) Filtration.

1. Zur Verwendung kommen Tonfilter (Pasteur-Chamberland, Reichel, Pukall u. a.), ferner Filter aus Infusorienerde (Berkefeld). Die Anordnung ist die gleiche wie die in Bd. I beschriebene Bakterienfiltration.

Von Modifikationen sei hier die von Martin & Cherry angewandte Imprägnierung der Pasteur-Chamberlandschen Filter mit Gelatine erwähnt (wodurch Diphtherieantitoxin festgehalten wurde, während das Toxin noch passierte).

Leider kann man von keinem dieser Filter von vorherein mit Sicherheit annehmen, daß es seinen Zweck in jeder Beziehung erfülle:

ist das Filter völlig bakteriendicht, so wird man auch mit einer Einbuße an Gift rechnen müssen, und läßt es das Gift unvermindert hindurch, so wird die Wahrscheinlichkeit bestehen, daß auch Bakterienzellen das Filter passiert haben. Je nach Art des Giftes und der Immunisierung, die man beabsichtigt, wird man den einen oder den anderen Mangel in Kauf nehmen und danach die Filterwahl treffen.

Es bedarf der Erwähnung, daß zwar die Größe der Filterporen, die übrigens auch bei einem und demselben Filter erheblichen Schwankungen unterliegen kann, in erster Linie für Durchgang oder Zurückhaltung von Toxin verantwortlich zu machen ist, aber doch nicht ausschließlich: die Beschaffenheit des Lösungsmittels ist ebenfalls von großer Bedeutung, hier fehlen ausreichende systematische Untersuchungen.

2. Weichfilter aus Asbest werden von Heim empfohlen: es kommen ähnliche Glaszylinder wie bei den Berkefeldfiltern zur Verwendung, am Boden des Glaszylinders ist ein pilzförmiger Siebkörper angebracht, dessen Auslaufrohr den Zylinderboden luftdicht durchbohrt. Um den Siebkörper wird gereinigter Asbest (Fasern von 20—40 mm Länge) unter Wasser gleichmäßig ringsum eingestopft mittels eines Stopfers (aus Holz), bis die Filtermasse die obere Kuppe des Siebkörpers etwa 1 cm hoch überragt. Näheres bei P. Schwenzer sowie Heim[3].

3. Papierfilter sind im besten Falle geeignet, einen größeren Bruchteil der suspendierten Bakterien zurückzuhalten: man wird dann mehrere Filterlagen benutzen und dafür sorgen, daß die Filter glatt an der Trichterwand anliegen; man muß spontan filtrieren lassen (nicht unter Druck) und häufig das Filtrat auf den Filter zurückgeben. Natürlich wird man Filterpapier von möglichst geringer Porenweite wählen (Schleicher & Schüll). Sind die bakterienhaltigen Giftlösungen (wie z. B. das Diphtheriegift) vorbehandelt mit koagulierendem Zusatz, wie z. B. mit Karbolsäure, so ist für den bestimmten Zweck die Papierfiltration schon geeignet. Die Filtrationstechnik bei Verarbeitung großer Mengen ist von Pick[1] geschildert.

4. Halbfestes Filter nach Grassberger-Schattenfroh[1] kombiniert die Anwendung von Klärpulver mit Filtration. Die Schilderung bezieht sich auf das Rauschbrandgift, eine Verwendung der Methode auch für andere Gifte, die ebenfalls stärkere Adsorption in den üblichen festen Filtern erleiden, muß aussichtsvoll erscheinen.

a) Vorfiltration. Die trübe Giftlösung (abgegossen von dem Kreide-Bodensatz und getrennt vom Paraffin im Scheidetrichter) wird mit reichlichen Mengen steriler, fein gepulverter Kreide versetzt und durch doppelten Faltenfilter filtriert. Der Teil des Filtrats, der rasch abfloß, wird nochmals mit Kreide versetzt und auf das Filter zurückgebracht.

b) Filtration: Ein Glastrichter von etwa 15 cm Durchmesser wird am Uebergang vom Bauch zum Hals von oben her mit einem locker gedrehten, aber gut anliegenden Wattepfropf versehen, der etwa 2 cm in den weiten Teil und 2 cm in den Hals hineinragt. Außen wird der Trichter an dem Uebergangsteil mit Watte umwickelt, auf einen Erlenmeyer aufgesetzt, mit Deckel versehen und sterilisiert. Vor der Filtration übergießt man 40—50 g trockene, sterilisierte Schlemmkreide in einem $^1/_4$ Liter-Kölbchen mit ausgekochtem, siedend heißem Wasser, schüttelt, bis die Masse gleichmäßig dickflüssig geworden ist. Diesen Kreidebrei überträgt man unter Führung eines Glasstabes in den mit Watte montierten Trichter: nach Abfluß des überschüssigen Wassers legt man auf die Oberfläche der halbfesten Kreidemasse zum Schutz der Decke dieses Filters ein kreisrundes Stück sterilisierten Filtrierpapiers, das sich auf der feuchten Filterdecke glatt ausbreitet. Nun gibt man die vorfiltrierte Giftlösung zunächst

tropfenweise, dann in dünnem Strahl auf das Filter. Die ersten 50 ccm des Filtrats sind mit dem noch restierenden Wasser des Kreidefilters verdünnt und kommen in Wegfall. Man kann in $^1/_2$—1 Tag bis zu $^3/_4$ Liter Filtrat erhalten.

Das Durchwachsen von Bakterien geht auszuschalten, wenn man vor der Filtration die Giftlösung mit Chloroform schwach schüttelt: Das ist bei Verwendung junger Nährbouillonkulturen anzuraten, hingegen wurden mit älteren Bouillonkulturen stets keimfreie Filtrate auch ohne Chloroformierung erhalten.

Zu berücksichtigen ist, daß möglicherweise durch den Kreidezusatz innerhalb des Filters schwer lösliche Kalksalze gefällt und Giftstoffe mitgerissen werden können.

Schwerspat, Bimsstein und kohlensaure Magnesia eignen sich nach Grassberger & Schattenfroh nicht zur Herstellung von halbfesten Filtern.

Abschwächung der Toxine.

Da die aus den Kulturen gewonnenen Toxine unter Umständen auch bei größeren Tieren selbst in kleinsten Mengen eine zu starke Erschütterung des Organismus, ja sogar Marasmus und Tod herbeiführen, so hat man sich genötigt gesehen, Abschwächungsverfahren anzuwenden.

I. Erwärmen.

Die Temperatur, welche geeignet ist, einem Toxin die Fähigkeit zu belassen, noch als Antigen zu wirken und gleichzeitig schwere Reaktionen hintanzuhalten, ist nicht nur bei den einzelnen Giftarten eine verschiedene, sondern auch bei dem Gift derselben Bakterienart. Das kann nicht wundernehmen, wenn wir die Ungleichmäßigkeit der Giftbildung, die komplexe Beschaffenheit des Giftes usf. berücksichtigen. Ein Unterschied ergibt sich auch, ob wir das frische oder ältere Gift erwärmen. Es ist auch daran zu denken, daß das Gift, so wie es gewöhnlich zur Anwendung kommt, ja nur einen Bruchteil der gesamten Stoffwechselprodukte darstellt; chemische Stoffe, die die Reaktionsänderungen bedingen, Fermente usf. finden sich gleichfalls in Lösung, es unterliegt keinem Zweifel, daß alle diese Stoffe schon an und für sich, vor allem aber auch bei Erwärmung des Mediums die Giftstoffe in irgendwelcher Weise beeinflussen, und zwar in verschiedener Weise, je nach ihrer Menge und Beschaffenheit.

Prinzipiell ist ferner auseinanderzuhalten, ob die Temperatur auf das Gift im trockenen oder gelösten Zustande einwirkt, das trockene Gift wird natürlich erst bei höheren Temperaturen oder erst nach längerdauernder Einwirkung beeinflußt.

Durch das Erwärmen hat man es in der Hand, die Toxizität in allen Abstufungen herabzusetzen. Von Wichtigkeit für die Immunitätstechnik ist die Tatsache geworden, daß eine Giftlösung, die bis zur Entgiftung erwärmt ist, doch noch als Antigen fungieren kann. Erwärmt man darüber hinaus, so geht auch diese Fähigkeit verloren, die Lösung vermag dann Reaktion überhaupt nicht mehr hervorzurufen.

Beispiele für Immunisierung mit durch Erwärmen abgeschwächten Giften.

Nachdem C. Fraenkel[1] bei Meerschweinchen mittels Chamberlandfiltraten von Diphtheriekulturen, ferner durch eine Stunde lang bei 55° gehaltene Kulturflüssigkeit oder die (1 Stunde) auf 100°

erhitzten Filtrate nur eine Erhöhung der Resistenz hervorrufen konnte, gelang es ihm durch einstündige Erwärmung drei Wochen alter Bouillonkulturen auf 65—70° einen wirksameren Impfstoff zu erhalten: 10—20 ccm schützten bei subkutaner Verabreichung Meerschweinchen gegen die frühestens 14 Tage später erfolgende subkutane Impfung mit virulenten Diphtheriebacillen.

Es reihen sich die Versuche von L. Vaillard an, der Kaninchen mit auf 55—60° erwärmtem Tetanusgift immunisierte, sowie diejenigen von Aronson, der die Immunisierung nach zweimaliger Impfung, zunächst mit einer auf 70° (1 Stunde), dann mit einer auf 62° erwärmten Diphtheriebouillon erfolgreich einleitete.

Hier ist auch hervorzuheben, daß es Ehrlich gelang, mit solchem durch Erwärmen modifizierten Tetanusgift Mäuse gegen unverändertes Tetanusgift giftfest zu machen, er nennt die modifizierten Gifte, die nicht mehr toxisch wirken, aber noch als Antigene verwendet werden können, Toxoide. Sie eignen sich zur Immunisierung von hochempfindlichen Tieren, die selbst nach Einverleibung kleinster Dosen unveränderten Giftes eine Immunität nicht entwickeln, sondern bei weiterer Behandlung sich überempfindlich erweisen. Auch können solche erwärmte Gifte zunächst nur zur Abstumpfung der Empfindlichkeit benutzt werden, zur Erzeugung einer Grundimmunität. Zur Gewinnung hochwertiger Antitoxine ist die ausschließliche Behandlung der Tiere mit solchen durch Wärme abgeschwächten Giften ungeeignet, es sind dann die nicht modifizierten Gifte am Platze (s. spezielle Darstellung).

II. Chemische Methoden zur Giftabschwächung*).

1. Jodpräparate.

a) Jodtrichlorid benutzte Behring[2] zunächst, um Tetanusgift abzuschwächen, damit gelang ihm die Immunisierung von Kaninchen und Pferden: die letzteren vertrugen mehrere Kubikzentimeter Tetanusbouillonkultur, der 0,25 Proz. Jodtrichlorid zugesetzt war; dieser Vorbehandlung folgte die Injektion eines weniger abgeschwächten Giftes mit 0,2 Proz. Jodtrichlorid, weiterhin mit 0,15 Proz., nach $1^1/_2$—2 Monaten konnte nicht abgeschwächtes Gift verabreicht werden.

Angaben über den Grad der Tetanusgiftabschwächung nach Zusatz von Jodtrichlorid sind zu finden bei Behring & Knorr, Behring & Ransom (Tetanusgift in 10-proz. Kochsalzlösung wird durch 0,05 Proz. Jodtrichlorid in 1 Tag um das 400-fache abgeschwächt, durch 0,2 Proz. in $1^1/_2$ Tag um das 4000-fache usw.).

Diese Methode war hervorgegangen aus einem anderen Verfahren, das Behring zunächst für die Immunisierung gegen Diphtherie, dann Kitasato auch gegen Tetanus benutzt hatten: es bestand in der subkutanen Einfuhr des Giftes (bei Tetanus z. B. 0,3 ccm des Kulturfiltrats) und der sofortigen Injektion von Jodtrichlorid (3 ccm einer 1-proz. Lösung) an derselben Stelle, Wiederholung der letzteren Injektion nach 1 Tag, später auch erneute Giftinjektionen. Bei Kaninchen war aber nur etwa bei 40 Proz. so eine Immunität zu erzielen,

*) Die einzelnen Mittel, durch welche Toxine abgeschwächt werden, sind bei der speziellen Darstellung aufgeführt, hier kommen nur die für die Antigendarstellung am häufigsten benutzten in Betracht.

bei Meerschweinchen und Mäusen überhaupt nicht. Behring modifizierte diese Methode sowohl für die Immunisierung gegen Tetanus als auch gegen Diphtherie. Er[4] versetzte 4 Wochen alte Diphtheriebouillonkulturen im Verhältnis 1:500 mit Jodtrichlorid und ließ es 16 Stunden lang einwirken. Meerschweinchen erhielten davon 2 ccm intraperitoneal. Nach 3 Wochen 0,2 ccm einer Diphtheriekultur, die 4 Tage lang in einer Bouillon mit Jodtrichloridzusatz 1:5500 gewachsen war. Nach weiteren 14 Tagen vertrugen die Tiere vollvirulente Diphtheriekultur.

Die Methode zur Immunisierung von Pferden für die Diphtherieheilserumgewinnung zunächst mit Jodtrichloridgift in verschiedengradiger Abschwächung, schließlich mit Vollgift ist geschildert bei Behring & Wernicke, siehe auch diesen Band bei v. Wassermann.

Ueber die wichtigen Veränderungen, die die Gifte durch Jodtrichlorid erfahren (kleinere Differenz zwischen tödlicher und krankmachender Dosis bei Tetanusgift, verlängerte Inkubationszeiten der Jodtrichloridgifte usf.), s. u. a. die Arbeiten von Behring & Ransom.

b) Lugolsche Lösung benutzten Roux & Martin. Zu Tetanusgift fügten sie gleiche Teile Lugolsche Lösung und benutzten dies abgeschwächte Gift zur Erzeugung von Grundimmunität. Danach Einspritzungen von Gift mit weniger Jod, schließlich unverändertes Gift. Mit demselben Mittel schwächten sie auch Diphtheriegift ab. Beispiel einer solchen aktiven Immunisierung eines Pferdes gegen Diphtheriegift auf der Grundlage der Vorbehandlung zunächst mit jodiertem Gift vgl. Wernicke, dieses Handbuch, Bd. V, s. ferner v. Wassermann, dieser Band. (Im Institut Pasteur beginnt die Diphtherieimmunisierung eines Pferdes mit $1/_2$ ccm Toxin + $1/_2$ ccm Lugol, subkutan Schulter. Nach Ablauf der Reaktion Wiederholung der Dosis, bis Reaktionen ausbleiben, danach das nicht abgeschwächte Toxin von 1—300 ccm steigend.)

Geringere praktische Bedeutung kommt den nachfolgenden chemischen Abschwächungsmitteln zu:

2. Schwefelwasserstoff, mit ihm schwächte Brieger[2] das Tetanusgift ab: er leitete das Gas ein, schmolz die Röhrchen zu und ließ sie 4 Tage bei Brutschrankwärme stehen. Danach Verjagen des H_2S durch reinen Wasserstoff.

3. Schwefelkohlenstoff wurde verwendet von Ehrlich[1] und Benario zur Abschwächung von Tetanusgiftbouillon, es trat fast völlige Entgiftung ein (Mäuse vertrugen bis zu 1 ccm), ohne daß die Antigeneigenschaften verloren ging (Grundimmunität trat nach 8 Tagen auf).

4. Flexner & Noguchi fanden bei ihren Schlangengiftuntersuchungen, daß die Toxine des Schlangengifts durch Salzsäure zwar entgiftet werden, aber ihre immunisierenden Eigenschaften behalten.

5. Außer den genannten chemischen Mitteln, die eine Abschwächung des Toxins ohne Verlust dessen immunisierender Fähigkeit bewirken, sind noch eine große Reihe anderer hie und da in Verwendung gekommen, hier sei nur noch verwiesen auf die für die Sterilisierung und Konservierung der Giftlösungen in Betracht kommenden Mittel, unter ihnen stehen das Toluol und die Karbolsäure in erster Reihe. Bei Injektion der Toluolgifte ist die Giftigkeit des Toluols zu berücksichtigen, man entfernt es mittels Filtration der Gift-

lösung durch nasses Papierfilter. Die Schädigungen des Antigens durch alle diese Mittel sind noch nicht so systematisch studiert, wie es wünschenswert wäre, man hat sich früher darauf beschränkt, die Abnahme und Zerstörung der Toxizität zu bestimmen, ohne die Antigenfähigkeit genügend zu berücksichtigen. Man darf deshalb Mittel, die als giftzerstörend früher beschrieben worden sind, noch nicht von der Liste der zur Antigenpräparierung geeigneten streichen und könnte einige namentlich bei veränderter Dosierung sehr wohl brauchbar für Immunisierungszwecke finden.

6. Relativ selten sind giftabschwächende Zusätze schon den Kultursubstraten beigegeben worden. So von Aronson Formaldehydlösungen zu Diphtheriekulturen. Hier sei auch die Giftabschwächung erwähnt, die Brieger, Kitasato & Wassermann bei Züchtung auf Thymusbouillon beobachteten (Tetanus, Diphtherie). Die Abschwächung trat auch ein bei Zusatz von Thymusauszug zu sporenfreier Tetanusbouillon. Beide abgeschwächte Giftsorten waren zur Immunisierung brauchbar.

III. Abschwächung durch Licht.

Ueber Entgiftung von filtrierter Tetanusbouillon durch Licht ohne Schädigung der immunisierenden und antitoxinbindenden Wirkung macht neuerdings E. Loewenstein[2] Mitteilungen: wurde das Gift mit 1 Prom. Formalin versetzt, so ging diese Entgiftung unter dem Einfluß einer $^1/_4$ Amp. Nernstlampe vor sich. Dauer der Bestrahlung richtet sich nach der ursprünglichen Stärke des Giftes (10—14 Tage). Für den Entgiftungsprozeß spielten die roten Strahlen des Spektrums die Hauptrolle, der Anteil des Formalins ist nicht geklärt.

Da es sich bei der aktiven Immunisierung mit Bakterientoxinen in erster Linie um die Immunisierung größerer Versuchstiere handelt, so sei hier auf diesen besonderen Abschnitt in diesem Bande verwiesen.

VI. Immunisierung mit Antigenen aus höheren Pflanzen.

1. Gifte höherer Pflanzen.

a) Antigendarstellung.

Die Methode zur Gewinnung von Toxinen höherer Pflanzen (Phytotoxine) richtet sich ganz nach der Art des Rohmaterials und nach Beschaffenheit und Menge des herzustellenden Antigens. Es muß daher auf die speziellen Darstellungen hier verwiesen werden.

Allgemein sei bemerkt, daß das Antigen für die Vorbehandlung der Tiere in den bisher bekannten Fällen am ehesten durch diejenigen Verfahren zu gewinnen ist, die die Extraktion eiweißhaltiger Stoffe des Rohmaterials ermöglichen. Diese sind zunächst durch Beseitigung der Cellulosehüllen zu erschließen und von solchen Stoffen zu befreien, die bei der immunisatorischen Behandlung der Tiere auf nicht spezifischer Wirkung beruhende Krankheitserscheinungen veranlassen könnten (Säuren, Fette, Oele, Alkaloide usf.). Die Fett- und Oelextraktionsmethode richtet sich nach der Art dieser zu beseitigenden Substanzen, am meisten wird Aether, Alkohol usf. verwendet, in vielen Fällen wird eine Kombination mehrerer Fettextraktionsmittel am

Platze sein (erst Aether, dann Alkohol, z. B. bei der Kobertschen Ricindarstellung, bei der Crotingewinnung erst Alkohol, dann Aether usf.). Manche Fettextraktionsmittel sind ungeeignet, weil sie nicht imstande sind, gleichzeitig auch die nichtspezifischen, giftigen, dem Fett anhaftenden Stoffe auszuschalten (z. B. ist Petroläther ungeeignet für Oelextraktion bei Crotonsamen).

Bei der eigentlichen Extraktion der spezifischen Toxine ist zu berücksichtigen, daß das Extraktionsmittel in innige Berührung mit den eiweißhaltigen Bestandteilen kommen muß, daher ist für weitgehende Zerkleinerung, häufiges Schütteln usf. Sorge zu tragen.

Als Extraktionsmittel werden Kochsalzlösungen bevorzugt, die Konzentrationen schwanken bei den einzelnen Autoren zwischen denjenigen der physiologischen Lösung bis zu 15-prozentigen. Daneben kommen Wasser, Glyzerin, Laugen und Säuren in Betracht. Laugen und Säuren sind nur mit Vorsicht zu verwenden, da manche Phytotoxine dadurch geschädigt werden können.

Als Extraktionstemperatur wählt man die des Zimmers oder Brütschranks, die Ricinextraktion kann bis auf 40° ausgedehnt werden. Sehr störend sind die Bakterienwucherungen, die in den Extraktionsflüssigkeiten auftreten können, sie sind unbedingt zu beseitigen, da sie Giftwirkungen vortäuschen können, am zweckmäßigsten wird man ihr Auftreten überhaupt durch Auswahl eines geeigneten Extraktionsverfahrens zu hindern suchen: denn sind sie einmal da, so stellen sich die gleichen Schwierigkeiten, sie zu beseitigen, ein wie bei der Trennung von Bakterien von ihren eigenen Toxinen. Die Zugabe von Desinfizientien hat für die Phytotoxinsterilisierung nur geringe Bedeutung, da man es hier meist mit widerstandsfähigen Sporen zu tun hat, man wird daher in erster Linie die Filtration oder scharfes Zentrifugieren in Anwendung bringen.

Gewinnung von Pollenextrakt (Dunbar).

Zur Trennung der Pollen von den anderen Gewebselementen werden z. B. Roggenähren (Secale cereale), bei denen die Antheren eben hervortreten, mit den abgeschnittenen Stengeln einige Zentimeter tief in Wasser eingestellt und an warmer, wenn möglich sonniger Stelle gehalten. Die Antheren reifen noch und streuen ein gelbes Pulver aus, das die von fremden Bestandteilen freien Pollen darstellt.

Die Pollen werden im Mörser trocken zerrieben, mit der 10-fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung versetzt und unter Zugabe von 0,5 Proz. Phenol 4 Stunden lang bei 37° extrahiert, dann über Nacht im Eisschrank aufbewahrt, zentrifugiert. Das erhaltene trübe Extrakt wird zur Behandlung der Tiere benutzt.

Für die Präzipitinreaktion wird das Antigen ohne Phenol wie oben bereitet, durch gehärtete Filter (Schleicher & Schüll, Nr. 575) filtriert (falls noch nicht klar: Filtration durch Berkefeld). Danach wird das Filtrat mit physiologischer Kochsalzlösung so weit verdünnt, bis die Kochprobe einen Eiweißgehalt von ca. 1:300—1:500 angibt.

Will man Pollenextrakt zu Komplementbindungsversuchen benutzen, so ist das Extrakt ca. 10—50mal mit Kochsalzlösung zu verdünnen.

b) Methode der Immunisierung gegen Phytotoxine.

Der einzuschlagende Weg richtet sich ganz nach Art des Antigens und Art der vorzubehandelnden Organismen. Manche Pflanzentoxine wirken auf bestimmte Tiere so stark, daß man sehr vorsichtig vorgehen muß, so z. B. bei der aktiven Immunisierung gegen Ricin: hier gilt es erst eine Grundimmunität zu erzeugen, ehe man zu der subkutanen Verabreichung des stark wirksamen Giftes übergehen kann. Ehrlich schickt dieser daher die stomachale voraus, da Ricin von der Subcutis aus etwa 100mal stärker giftig wirkt. Damit gelang

es ihm, Mäuse, Kaninchen, Ziegen so weit vorzubereiten, daß sie nun die subkutan injizierte halbe tödliche Dosis nur mit lokalen Reaktionen. beantworteten und 8 Tage später — nach Ausgleich des Gewichtsverlustes — tödliche Dosen vertrugen. Die Immunität geht noch höher zu treiben.

Auch bei der Einverleibung von Phytotoxinen tritt die Immunität erst nach einer Reihe von Tagen auf, Ehrlich stellte bei der Ricinimmunität fest, daß sie am 6. Tage einsetzt, und zwar fast kritisch. In der klassischen Arbeit Ehrlichs ist auch die Immunitätskurve bei stomachaler Einverleibung des Ricins (Typus der Parabel) wiedergegeben.

Immunisierung von Kaninchen mit Pollenextrakt. Von dem oben erwähnten Extrakt erhalten Kaninchen intravenös 0,5 g. Steigerung allmählich auf 2,5 g. Oder man gibt 1 g subkutan, Steigerung bis auf 5 g (auch intraperitoneal) (Dunbar).

Weitere Methoden der Antigendarstellung und Immunisierung sind beschrieben:

1. Ricin, Abrin, Crotin, Robin, dieser Band, M. Jacoby.
2. Heufiebergifte, dieser Band, C. Prausnitz.
3. Amanitatoxin bei Abel & Ford.

2. Eiweißstoffe höherer Pflanzen.

Die Vorbehandlung von Tieren mit Pflanzeneiweiß ist in erster Linie zur Erzeugung von Präzipitinen in Anwendung gekommen.

Die Antigendarstellung deckt sich im allgemeinen mit der zur Extraktion der Phytotoxine dienenden, in der Regel genügt das Ausziehen der gut zerkleinerten Rohmaterialien mit physiologischer Kochsalzlösung oder Wasser.

Kowarski verfuhr folgendermaßen: 50 g fein zermahlenen Weizenmehles wurden mittels Glasstabes mit 150 ccm physiologischer Kochsalzlösung gut durchmischt, nach $^{1}/_{2}$ Stunde wurde die Flüssigkeit vom Bodensatz abgegossen und filtriert, das Filtrat auf dem Wasserbade bis zum Gerinnen des aufgelösten Albumins erhitzt. Nach Erkalten mehrmalige Filtration durch Doppelfilter bis zur Klarheit. Diese (0,5-proz.) Lösung von Albumose wurde (frisch bereitet) Kaninchen intravenös in der jedesmaligen Menge von 8—10 ccm jeden 3. Tag eingespritzt, die Immunisierung im ganzen 6—8 Wochen fortgesetzt.

Wendelstadt & Fellmer weichten Bohnen etc. 1 Tag lang in physiologischer NaCl-Lösung auf, schälten, zerschnitten und zerrieben mit Kochsalzlösung im Mörser, nach kurzer Extraktion filtrierten sie durch 4-fache Mulllage. Vgl. auch Raubitschek.

Weitere Modifikationen finden sich in den Arbeiten der übrigen Autoren, die sich mit der Herstellung von Präzipitinen nach Einverleibung pflanzlicher Stoffe befaßten, Literatur bei Kraus, dieser Band.

Hier sei nur angefügt, daß auch die Methode der Preßsaftgewinnung nach Magnus und Friedenthal brauchbare Präzipitinogene aus Pflanzen liefern kann.

VII. Immunisierung mit Antigenen tierischer Herkunft.

Eine Gruppierung dieser Methoden ergibt sich durch die physiologische Wirkungsweise der Antigene tierischer Herkunft: Diese können toxische Wirkung entfalten, und zwar auf den lebenden Organismus oder auf isolierte Zellen, wie z. B. rote Blutkörperchen. Diese Gruppe umfaßt die Zootoxine, einschließlich der Zoohämotoxine.

Weiterhin aber beziehen wir vom tierischen Organismus Stoffe nichttoxischen Charakters, Zellen und Körpersäfte, deren Einfuhr in einen Tierkörper ebenfalls die Bildung spezifischer Antikörper Agglutinine, Hämolysine, Präzipitine usf.) hervorruft.

1. Tierische Toxine*).

a) Antigene aus Serum.

Es kommen in Frage das Aalserum, das rein toxisch und außerdem hämotoxisch wirkt, sowie das Schlangenserum. Die Darstellung dieser Antigene beschränkt sich lediglich auf die Blutgewinnung und Abscheidung des Serums (durch Zentrifugieren). Aalblut gewinnt man durch Dekapitieren oder Entnahme aus der Aorta. 100 g Tier liefern etwa 0,6 ccm Serum. 0,1 ccm tötet Kaninchen in wenigen Minuten, für Hunde ist die letale Dosis 0,02 ccm pro 1 kg Gewicht. Methode der Immunisierung ist geübt von H. Kossel, ferner Camus und Gley. Ueber das Gift des Schlangenserums vgl. Calmette, dieser Band. Für die Zwecke der Immunisierung kann das im Serum der Viper und Natter befindliche Gift nach Phisalix und Bertrand $^1/_4$ Stunde auf 58° erwärmt werden, es wirkt dann noch als Antigen, aber nicht mehr toxisch.

b) Antigene aus tierischen Sekreten.

1. Giftsekret von Schlangen.

Man gewinnt das Gift entweder vom lebenden Tier, indem man die Tiere auf ein zwischen die Kiefer geschobenes Uhrglas, oder in einen Wattebausch oder einen Schwamm beißen läßt, oder vom toten Tier, indem man die Giftdrüsen frei präpariert und mit geeigneter Pinzette zur Saftauspressung komprimiert. Man kann auch die Drüsen mit Wasser oder 10-proz. Kochsalzlösung extrahieren. Das Gift wird im Vakuumexsikkator getrocknet. Näheres s. bei Calmette, dieser Band.

Für die aktive Immunisierung macht sich zumeist eine Abschwächung des Giftes nötig, da das unveränderte Gift bei subkutaner Anwendung Oedeme, Entzündungen, Hämorrhagien und mitunter Nekrose veranlaßt.

a) Abschwächung durch Erwärmen.

Nachdem Calmette 1892 gezeigt hatte, daß erhitztes Cobragift noch als Antigen zu wirken vermag, ist diese Methode der Abschwächung sehr oft zur Anwendung gekommen: so erhitzten Phisalix und Bertrand das Gift von Vipera berus 5 Minuten auf 75°, 0,0004 g davon schützten Meerschweinchen gegen die 2 Tage später injizierte gleiche Dosis nicht erhitzten tödlichen Giftes. Nach den Versuchen von Ishizaka ist die Verhütung von Hautnekrosen nach subkutaner Injektion von Schlangengiften erst zu erwarten, wenn über 62° erwärmt wird.

b) Abschwächung durch Chemikalien.

α) Calmette benutzt die Chlorierung; er setzt dem Cobragift gleiche Teile einer 1-proz. Chlorgold- oder Calcium hypochloricum-Lösung zu und injiziert jeden 3. bis 4. Tag zunächst sehr kleine, allmählich sich steigernde Dosen. Nach vier Injektionen des chlorierten Giftes vertragen die Tiere die halbe, dann dreiviertel und schließlich die ganze tödliche Dosis usf. des Vollgiftes.

β) Salzsäure- oder Jodtrichloridzusatz empfehlen Flexner & Noguchi, ferner Madsen & Noguchi.

γ) Chloroform, Schwefelwasserstoff, Eisessig verwandte Ishizaka mit Erfolg an.

2. Krötengift (Phrynolysin).

a) Darstellung. Die Tiere (Bombinator igneus = Feuerkröte, Bufo cinereus = Gartenkröte, das Gift der letzteren ist weniger wirksam) werden nach Abwaschen mit Kochsalzlösung dekapitiert und enthäutet. Die Haut wird zerkleinert und mit Glaspulver fein zerrieben, dem Brei werden 2—3 ccm Kochsalzlösung zugegeben, Zentrifugieren. Die schwachsaure Giftlösung wird mit Toluol versetzt und im Eisschrank aufbewahrt.

b) Immunisierung: Kaninchen subkutan, Anfangsdosis 0,5 ccm, nach 8 Tagen 5 ccm, dann alle 5—6 Tage je 5 ccm. Nach Injektion von im ganzen 30—35 ccm wirkt das Serum antilytisch (Hammelblutkörperchen). Vgl. im übrigen Pröscher.

Bei dem japanischen Salamander (Sieboldia maxima) ist durch Phisalix mittels Wasser- und Glyzerinextraktion der Haut des Rückens ein Gift nachgewiesen, das er nach Abschwächung bei 50° als Antigen benutzen konnte.

---

*) Ausführlichere Darstellung siehe C. Oppenheimer [2], R. Kobert, E. G. Faust.

3. Bienengift.

Die Gewinnung ist bei J. LANGER eingehend beschrieben, sie geschieht durch Druck auf das Abdomen der Biene, wobei an der Spitze des Stachels das klare Gifttröpfchen erscheint. Auffangen in Wasser. Oder: Verreiben der frisch ausgerissenen Stachel nebst Giftblasen in Wasser (oder nach MORGENROTH & CAPRI mit Kochsalz- und Glyzerinlösung, 100 Stacheln mit Giftblasen werden mit 10 ccm Kochsalzlösung und Glyzerin 24 Stunden lang im Eisschrank extrahiert).

Aktive Immunisierung führte CALMETTE bei Mäusen aus.

4. Wespengift.

Darstellung (Extraktion mit Glyzerin) und Immunisierung (von Kaninchen) durch PHISALIX.

5. Trachinusgift, aus Giftfischen. Gewinnung und Immunisierung bei BRIOT[1, 2]. Zur Immunisierung sind Kaninchen und Meerschweinchen geeignet (subkutan).

6. Spinnengift.

Die Darstellung bereitet keine Schwierigkeiten. KOBERT benutzte zunächst wässerige oder Kochsalzextrakte aus den ganzen Spinnen, später zeigte er, daß man auch nur einzelne Teile zu nehmen braucht, da das Gift über den ganzen Körper verteilt ist. Das Hämotoxin findet sich auch in den neugeborenen Spinnen, die man lebend zerreibt, extrahiert. Danach Filtration. Das so erhaltene Gift von Latrodectes (syn. Karakurten) wirkt hämolytisch auch in vivo, in Analogie zu dem Kreuzspinnengift hält man es für ein echtes Toxin.

Das Kreuzspinnengift (Arachnolysin) ist in seinem immunisatorischen Verhalten von H. SACHS[1] näher studiert.

Darstellung. Lebende Kreuzspinnen werden in toluolhaltiger, physiologischer Kochsalzlösung zerrieben. Diese stellt man sich so her, daß man mit Toluol kräftig geschüttelte Kochsalzlösung einige Tage stehen läßt, man verwendet zur Extraktion dann die unter der Toluolschicht befindliche Lösung, und zwar 4 ccm auf 1 g Spinnenmaterial. Die Emulsion kommt auf 1 Tag in den Eisschrank (Schütteln für einige Stunden kann angebracht sein). Verdünnen mit dem 5-fachen Volumen Kochsalzlösung, Filtration oder Zentrifugieren. Bei Zusatz von Chloroform wirkt das Gift jahrelang hämolytisch (insbesondere auf Kaninchenblut).

7. Antigene aus Tänien.

Methoden siehe bei ISAAC und VON DEN VELDEN (antiseptische Autolyse der Proglottiden von Bothriocephalus latus), ferner bei FLECKSEDER & v. STEISKAL (Taenia mediocanellata), J. LANGER (Zerreibung der gereinigten Proglottiden und Parasiten mit Glasstaub unter Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung, filtrieren, zentrifugieren), MESSINEO & CALMIDA (Zerreibung mit Sand oder Glas, Extraktion mit Kochsalzlösung, Berkefeldfiltration oder Reinigung durch Salzfällung).

8. Blutegelextrakt als Antigen benutzte WENDELSTADT (Köpfe der mit 4-proz. Formalin abgewaschenen Blutegel wurden mit Glasstaub zerrieben — 15 Köpfe auf 20 ccm physiol. Kochsalzlösung, Filtration). Vorbehandlung von Kaninchen subkutan oder intravenös. Der Antikörper des Serums dieser Tiere beeinflußt die gerinnungshemmende Substanz des Antigens.

9. Ueber Antigene aus Echinodermen vgl. v. DUNGERN[3], sowie HENRI und KAYLOF. (Seeigelgift, gewonnen aus den Giftdrüsen, Immunisierung von Kaninchen.)

10. Ein toxisches Antgien aus Sarkosporidien erhielten mittels Kochsalzextraktion TEICHMANN & BRAUN.

Die Cysten von Sarcocystis tenella aus der Schlundmuskulatur von Schafen und Ziegen werden getrocknet, zu Pulver verrieben und mit Kochsalzlösung extrahiert durch 1 Stunde langes Schütteln, Abzentrifugieren, Filtrieren. (0,1 g Trockensubstanz auf 10 ccm Kochsalzlösung = Giftdosis 1:100.) Aktive Immunisierung von Kaninchen subkutan mit den Dosen 1:100000, 10000, 5000, 2500, 1000, 500, 250, 100. Jede Dosis wurde 2mal appliziert, Impfung alle 8 Tage. Nach $^1/_4$ Jahr verträgt das Kaninchen das Hundertfache der tödlichen Dosis.

2. Ungiftige Antigene tierischer Herkunft.

I. Antigene aus Blut.

1. Rote Blutkörperchen. Hämolysingewinnung.

a) Defibrinieren. Das Blut gewinnt man unter Benutzung eines der im Abschnitt „Methodik der Antikörperdarstellung" geschilderten Verfahren der Blutentnahme, man bevorzugt hierbei aber ein solches Verfahren, bei welchem das Blut rasch ausfließt. Die Defibrinierung erfolgt durch Schlagen mit einem Glasstab (diese Methode verwendet man meist nur, wenn es sich um sehr kleine Quantitäten Blut handelt, die man dann z. B. in einer kleinen Porzellanschale auffängt), in der Regel erfolgt das Defibrinieren durch Schütteln mit Glasperlen, Schrot, Stahlspähnen oder Drahtspiralen. Als Auffangegefäß dient am besten ein Pulverglas mit starken Wandungen, das durch Korkstopfen verschlossen wird. Dies Gefäß mit Perlen oder dgl. und Stopfen ist vorher trocken zu sterilisieren. (Zur Gewinnung kleiner Blutmengen kann man auch kleine mit Glasperlen versehene und mit Wattestopfen verschlossene Erlenmeyerkölbchen verwenden, diese müssen aus gutem Glas gefertigt sein, da beim Schütteln mit den Glasperlen die Glaswand springen kann.) Ein gründliches Schütteln kann nur erfolgen, wenn die Gefäße nicht zu voll gefüllt werden. Es scheint aber, daß bei zu kräftigem Schütteln auch Blutkörperchen zerreißen können.

Würde man mit den Blutkörperchen auch gleichzeitig Serum injizieren, so entstehen noch eine Reihe anderer Antikörper (Präzipitine usf.), die die Hämolyse störend beeinflussen. Auch werden die Injektionen von Blutkörperchen + Serum schlechter vertragen. (Ueber die Ursache des Todes nach intravenöser Verabreichung frischen defibrinierten Blutes s. Moldovan.)

b) Das Waschen des Blutes bezweckt das Serum zu entfernen: das geschieht durch Zentrifugieren und Ersatz des Serums durch 0,85-proz. Kochsalzlösung. Man gibt von dem defibrinierten Blut eine Portion in ein Zentrifugenglas, signiert mit Fettstift außen am Glas das Quantum, gießt Kochsalzlösung auf und mischt. Je weniger Blut und je mehr Salzlösung man nimmt, um so eher wird man das Waschen beendigen dürfen. In der Regel nimmt man bei dem üblichen kleinen Format (15—20 ccm Inhalt) der Zentrifugengläser ca. 3 ccm defibrinierten Blutes, markiert, füllt Salzlösung auf bis etwa 1 cm vom oberen Rand entfernt und zentrifugiert. Die Zeit des Zentrifugierens richtet sich nach der Leistungsfähigkeit der Maschine. Man vermeidet ein zu starkes Ausschleudern, weil sich dann die fest aneinander und an die Glaswand klebenden Zellmassen schlechter wieder verteilen lassen. Das Serumsalzgemisch läßt sich in der Regel nicht abgießen, ohne daß die Blutkörperchen zu stark aufgewirbelt werden, man saugt es ab und nimmt je nach der Quantität kleinere oder größere mit Saugkappe oder mit einem Gummischlauch nebst Mundstück versehene Pipetten, deren untere Mündung möglichst kapillar auslaufen soll: geht man mit dieser Spitze der Glaswand entlang millimeterweise von oben nach unten, so läßt sich das Serumsalzgemisch weithin absaugen, ohne daß Blutkörperchen mit in die Pipette übertreten. Noch einfacher und auch sicherer ist es, mit einem Wasserstrahl-

sauger einen nicht zu kurzen Gummisaugschlauch zu verbinden und am peripheren Schlauchende ein in eine Kapillare auslaufendes Glasrohr einzufügen.

Nach Absaugen füllt man wieder bis oben hin neue Kochsalzlösung auf, mischt, zentrifugiert wieder, saugt wieder ab, gibt nochmals Salzlösung auf, mischt und schleudert aus. Nach diesem dreimaligen Waschen saugt man wiederum das Obenstehende ab und füllt mit Kochsalzlösung bis zur Marke auf, damit hat man die konzentrierte Aufschwemmung gewaschener Blutkörperchen, so wie sie zu Antigenzwecken verwendet wird.

Will man schneller zum Ziele kommen, so ist ein kleineres Blutvolumen und eine größere Salzmenge zu mischen: wählt man das Verhältnis 1:50, so genügt für die meisten Zwecke ein zweimaliges Waschen.

Nach Morgenroths Beobachtungen eignet sich für das Waschen der Hunde- und Pferdeblutkörperchen besser eine höherprozentige Kochsalzlösung als die übliche 0,85-proz., man nimmt in diesen Fällen eine 0,95-prozentige.

Für Tierversuche ist stets frisches Blut zu verwenden, und die konzentrierte Blutkörperchenaufschwemmung ist alsbald nach beendigtem Waschen zu injizieren, da bei der üblichen Waschmethode das Eindringen von Bakterien unvermeidlich ist und diese sich in der von Serum befreiten Suspension reichlicher vermehren.

c) Will man das Defibrinieren vermeiden, so kann man nach Ehrlichs Vorgang 5 ccm Blut in 95 ccm einer Natriumcitrat-Kochsalzlösung (100,0 Aqua dest., 0,85 g Kochsalz, 0,5 g Natriumcitrat) einfließen lassen: das Blut gerinnt nun nicht und kann durch dreimaliges Waschen mit Kochsalzlösung von dem Natriumcitrat befreit werden. Die Oxalate verwendet man in der Immunitätstechnik weniger gern, sie stören z. B. die Alexinwirkung. Da das für die Antigengewinnung irrelevant ist, so steht ihrer Anwendung hier wohl nichts entgegen, man nimmt eine 0,5—1-proz. Lösung von oxalsaurem Natron oder Kali, oder man gibt zu einer physiologischen Kochsalzlösung 0,1—0,5 Proz. Kaliumoxalat hinzu. Man läßt dann das dem Tier entfließende Blut direkt in die gerinnungshemmende Flüssigkeit einlaufen, die sich in einem Meßgefäß befinden muß. Man wählt zum mindesten die Verdünnung 1 Teil Blut: 9 Teilen Flüssigkeit.

d) Vorbehandlung von Tieren mit Blutkörperchen zum Zweck der Hämolysingewinnung.

Man kann die verschiedensten Methoden wählen, systematische vergleichende Versuche an einem großen Tiermaterial sind nicht ausgeführt. Einzelbeobachtungen verlieren dadurch an Wert, daß sich die einzelnen Tierorganismen — und das gilt vor allem von dem zumeist verwendeten Kaninchen — auch in bezug auf die Hämolysinproduktion recht verschieden verhalten. Man wird daher immer mehrere Tiere in Behandlung nehmen. Beispiel: a) Kaninchen. Vorbehandlung mit Hammelblut (gewaschen, unverdünnt).

1. Zu Beginn: intravenös 0,5—5 ccm.
2. Nach 6—8 Tagen: intravenös 0,5—5 ccm.
3. Nach 6—8 Tagen: intraperitoneal 5 ccm.

Warten 8 Tage. Blutabnahme.

Oft ist das Serum schon 8 Tage nach der 2. Injektion brauchbar.

Die Vorbehandlungsmethode ist unter Umständen zu ändern: mitunter wird eine zweite intravenöse Injektion schon schlechter vertragen (Ueberempfindlichkeit), weshalb man für die Wiederholung der Vorbehandlung zur intraperitonealen Injektion übergeht, manche Autoren tun das prinzipiell. Man kann auch bei Kaninchen die rein intraperitoneale Immunisierung anwenden, das empfiehlt sich vor allem dann, wenn das Normalserum der Tierart an und für sich schon Hämolysine gegenüber dem Blutkörperchenantigen enthält. Die Applikation in die Subcutis führt oft zu Infiltraten und Abszessen.

b) Sachs empfiehlt folgende Methode:

Kaninchen. Antigen: Blut vom Rind, Hammel, Ziege etc., gewaschen, unverdünnt.

1. Zu Beginn: 30 ccm Blut intraperitoneal.
2. Nach 8—10 Tagen: 30—40 ccm Blut intraperitoneal.

Warten 9—10 Tage. Blutabnahme.

Für die Vorbehandlung von Meerschweinchen und Ziegen wird ebenfalls die intraperitoneale Einverleibung gewählt. Sachs wählt bei ersteren die Dosis 6—8 ccm, bei letzteren bis zu 200 ccm.

Die Tiere können auch nach erfolgter Serumgewinnung weiter behandelt werden (intraperitoneal), allerdings muß man dann auf weitgehende Unregelmäßigkeiten gefaßt sein.

c) Schnellimmunisierung nach Fornet und Müller, in der gleichen Weise wie die S. 116 geschilderte Präzipitingewinnung: 5, 10, 15 ccm Antigen (gewaschenes, unverdünntes Blut an 3 aufeinanderfolgenden Tagen, nach 12 Tagen Entbluten). Diese Methode ist nach Bonhoff & Tsuzuki für Hämolysingewinnung unzulänglich.

2. Blutkörperchen-Stroma als Antigen.

Darstellung: siehe Wooldbridge, Uhlenhuth & Haendel, Nolf, A. Klein, Bulloch, Bordet, H. Sachs[2], Dautwitz & Landsteiner (hier auch Entfettung), Pascucci.

3. Hämoglobin als Antigen.

Methoden der Darstellung und Tierbehandlung sind nachzulesen u. a. bei Nolf, Ide, A. Klein, vgl. auch E. P. Pick[1].

4. Antigene aus Leukocyten.

Eine Zusammenstellung der Verfahren zur Extraktion der Leukocyten gibt E. P. Pick[1].

5. Serum als Antigen.

In erster Linie kommt Serum als Präzipitinogen in Frage, und zwar sowohl für die Gewinnung von Präzipitin zum Blutnachweis als auch allgemein für die Eiweißdifferenzierung. Es hat sich gezeigt, daß man zur Gewinnung von Präzipitinen zum Blutnachweis nicht nötig hat, Serum + Blutkörperchen zu injizieren, vielmehr erreicht man nach den bisherigen Erfahrungen die gleichen Resultate mit Serum allein.

Diese Methode ist auch viel einfacher: Serum läßt sich leichter beschaffen als defibriniertes Blut — man denke an Menschen- und Vogelblut —, zudem hat man bei Serum die Möglichkeit, es keimfrei zu filtrieren (was aber durchaus nicht immer notwendig ist). Es kommt hinzu, daß die Injektion von Serum + Blutkörperchen in dem Falle

nicht ungefährlich ist, wenn das zu behandelnde Tier für die Antigenblutart ein Hämolysin führt.

Gewinnt man die Antigensera aseptisch oder filtriert man sie keimfrei, so sind sie in eingeschmolzenen Röhrchen im Dunkeln und Kühlen lange brauchbar.

Auch Zusatz von Chloroform, das man vor Injektion des Serums durch leichtes Erwärmen entfernt, oder Zusatz von 0,3—0,5-proz. Karbolsäure konserviert das Serumantigen.

Die Eintrocknung (bei 37^0, Schichten von 1—5 mm) empfiehlt Uhlenhuth, der das getrocknete Material in Reagenzgläsern aufbewahrt, im Bedarfsfall im Mörser zerreibt und in physiologischer Kochsalzlösung bis zur Sättigung auflöst. Er konnte das Antigen so 4 Jahre konservieren. Nach Löffler kann das Trockenantigen schadlos $^1/_2$ Stunde auf 150^0 erwärmt werden.

Die Serumgewinnung ist im übrigen die gleiche, wie sie in dem Beitrag Methodik der Antikörperdarstellung geschildert ist: Da wir hier aber das Serum zur Injektion verwenden, so sind Verunreinigungen fernzuhalten. Ob durch Verwendung von keimfrei filtriertem Serum als Antigen infolge eines etwaigen Antigenverlustes bei der Filtration die Präzipitinbildung eine Modifikation erfährt, ist nach den vorliegenden Erfahrungen nicht anzunehmen. — Ein solches Serum hat den Vorzug, bei Abfüllung in sterile Gläschen auch ohne Konservierungszusatz lange verwendbar zu bleiben.

Das ganz frische Serum kann unter Umständen giftig wirken.

Die Entgiftung der meisten Seren erfolgt schon nach wenigen Stunden Stehens bei Zimmertemperatur oder im Eisschrank. Auch das Erwärmen auf 55^0 ist zur Entgiftung geeignet. Die einzelnen Serumarten werden in verschieden schneller Zeit entgiftet: bei Rattenserum genügt $^1/_2$ Stunde langes Erwärmen noch nicht, die Erwärmung muß auf eine Stunde ausgedehnt werden (Graetz). Für Rinder- und Eselseren ist mehrmaliges dreistündiges Erwärmen auf 55^0 notwendig, um die Toxizität aufzuheben (Gasbarrini).

Spezielle Methoden zur Serumgewinnung beim Menschen (Placentarblut, Schröpfung, Leichenblut) sind wiedergegeben bei Uhlenhuth & Weidanz, Literatur s. auch R. Kraus, dieser Band.

Präzipitingewinnung.

a) Tierart.

Die Fähigkeit, kräftige Präzipitine zu liefern, ist bei den einzelnen Tierarten bei weitem nicht so verbreitet, wie die der Bildung anderer Antikörper (Hämolysine, Agglutinine usf.). Am geeignetsten sind Kaninchen. Brauchbar sind auch Hühner. Weniger geeignet sind Hammel, Ziegen, Pferde. Ungeeignet sind Hunde, Kaltblüter. Unter den Kaninchen sind auch Individuen mit sehr mangelhafter Präzipitinbildung anzutreffen, man wird daher stets eine Anzahl von Tieren vorbehandeln.

b) Applikationsmodi.

Es kommt für praktische Zwecke fast ausschließlich die parenterale Einverleibung in Frage.

Die intravenöse Methode gilt als die ergiebigste, ihre Anwendung ist die Regel; nächst ihr wird die intraperitoneale bevorzugt, sie ist in manchen Fällen der intravenösen vorzuziehen, z. B.

wenn es sich um Einverleibung von defibriniertem oder angetrocknetem Blut handelt. Subkutane Injektion setzt das Freisein des Antigens von Bakterien oder zelligen Elementen voraus, sonst entstehen leicht Abszesse, unter deren Verlauf die Präzipitinbildung zu leiden pflegt. Es sind aber auch Infiltrate und Nekrosen nach Injektion sterilen Serums beobachtet. Sie sollen sich vermeiden lassen, wenn man verdünntes Serum injiziert.

Es empfiehlt sich, vor der Injektion das Serum auf Körperwärme oder wenigstens Zimmertemperatur zu bringen. Verschiedene Autoren schieben unglückliche Zufälle bei der Behandlung der Verwendung von eisschrankkaltem Serum zu (LEERS).

Die Herstellung eines hochwertigen Präzipitins stößt trotz aller Vorsichtsmaßregeln oft auf Schwierigkeiten, da ein großer Teil der Kaninchen noch während der Vorbehandlung eingeht.

W. FORNET & M. MÜLLER empfehlen in der Annahme, daß es sich hierbei um Ueberempfindlichkeit handele, die beim Zusammentreffen des artfremden Eiweißes mit den infolge vorheriger Injektion gebildeten Reaktionsprodukten gegen dieses Eiweiß zustande kommt, die Einverleibung des zur Antikörperproduktion notwendigen artfremden Eiweißes in so kurzen Intervallen, innerhalb deren eine Antikörperbildung noch nicht entwickelt ist.

Kaninchen erhalten am 1., 2. und 3. Tag 5, 10 und 15 ccm der Eiweißart intraperitoneal. Verbluten am 12. Tag.

Bei dieser Schnellimmunisierungsmethode trat ein Tierverlust nicht ein. Die Autoren rühmen die Sicherheit des Erfolgs und die wesentliche Zeitersparnis. Zuweilen erhielten sie auch schon nach einer einmaligen Injektion von 30 ccm Fleischsaft und nach Serumentnahme am 5. oder 6. Tage wirksame Sera (1:10000).

Nachprüfung dieser Methode durch BONHOFF & TSUZUKI bestätigte diese Beobachtungen von FORNET & MÜLLER hinsichtlich der Präzipitinerzeugung (hingegen versagte die Schnellimmunisierung zur Gewinnung von Hämolysinen: es traten Tierverluste auf und die Ambozeptoranreicherung war eine ganz ungenügende).

Immunisierunsschemata s. S. 179.

Zur Vermeidung von Tierverlusten muß bei der Antigengewinnung für die Erzeugung von Hämolysinen und Präzipitinen, wie erwähnt, peinlichst aseptisch vorgegangen werden. Ist es auch mitunter erstaunlich, welche Quantitäten bakterienhaltigen Materials die Tiere vertragen, so sind sie doch oft auch kleinen verunreinigenden Beimengungen gegenüber sehr empfindlich.

Die Benutzung ganz frischer Blutkörperchen und frischer Seren — nach der Entgiftungszeit — läßt die Tierverluste wesentlich zurücktreten, vorausgesetzt, daß beim Manipulieren mit diesen Antigenen die nötige aseptische Vorsicht waltete.

Nicht ganz so leicht ist die Gewinnung von Organ- oder Muskelauszügen, da hier unkontrollierbare Verschmutzung von außen her vorliegen kann.

Ueber Organauszüge s. S. 117 ff.

Bei vergleichenden Versuchen der Gewinnung von Präzipitin durch Verabreichung von Serum und Muskelextrakt ist in der Regel das stärker wirksame Präzipitin durch Verwendung des Muskelextraktes zu erhalten, sofern es sich um Eiweiß vom Pferd handelt.

Nach Bonhoff & Tsuzuki ist hingegen Extrakt von Schweine- und Rindermuskel weniger geeignet als Schweine- und Rinderserum.

II. Aufschließung von Organen zur Antigengewinnung.

Die Organe entnimmt man den soeben getöteten Tieren mit sterilen Instrumenten unter sonstigen aseptischen Kautelen. War die Entnahme nicht einwandfrei, so legt man größere Organ- oder Muskelstücke in Desinfizientien ein oder gibt sie noch besser eine Zeitlang in kochendes Wasser, z. B. 5 Minuten lang: durch aseptische Aufschließung der von der Koagulationstemperatur nicht berührten zentralen Teile ist dann ein für die Antigendarstellung geeignetes Rohmaterial in der Regel zu gewinnen.

In den meisten Fällen wird es wünschenswert sein, die Organe möglichst weitgehend von Blut zu befreien. Am exaktesten geschieht das dadurch, daß man die Tiere entblutet und bei noch schlagendem Herzen physiologische Kochsalzlösung von den großen Arterienstämmen durchspült, oder man entblutet das Tier aus der rechten Carotis und leitet von der linken Vena jugularis externa längere Zeit physiologische Kochsalzlösung durch das Gefäßsystem, bis aus der Carotis reine Kochsalzlösung ausfließt. Bei der Leber ist rückläufige Ausspülung von der Vena cava aus empfehlenswert. Waren die Organe schon entnommen, so müssen sie gründlich zerkleinert werden, damit nun das noch restierende Blut durch Kochsalzlösung (oder Wasser) entfernt werden kann.

Des weiteren empfiehlt sich bei der Antigendarstellung aus Organen diese gründlichst von Fett, Bindegewebe, Gefäßen usf. zu befreien. Da verschiedene Extraktionsmittel die für unsere Zwecke wichtigen Eiweißsubstanzen reichlicher in Lösung treten lassen, wenn die Fettentfernung sich nicht nur an das außen anhaftende und grob sichtbare Fett beschränkt, so ist an der gut zerkleinerten Organmasse das Ausschütteln mit Fettextraktionsmitteln anzuschließen. Noch ausgiebiger erfolgt natürlich die Fettentfernung, wenn das Material vorher getrocknet wurde (siehe unten).

Zerkleinerung von Organen und Extraktion.

Man kommt ohne komplizierte Apparate in den meisten Fällen aus, wenn es sich um relativ weiche Organe handelt.

Die Organe werden mittels Schere oder Messers in kleine Stückchen zerschnitten, nun sofort in sterilen Reibschalen oder im Mörser weiter zerdrückt und zerrieben. Zusatz von Extraktionsflüssigkeit soll man möglichst hinausschieben. Eine sehr gründliche Zerkleinerung erzielt man dadurch, daß man den Organstückchen vor der Verreibung sterilen Seesand hinzufügt. Der Seesand muß chemisch indifferent sein (Reinigung mit Salzsäure, lange wässern, trocknen), da dies bei Glaspulver meist nicht der Fall ist, vermeidet man es besser. Auch Kieselgur wird empfohlen. Man setzt dem Sandorganbrei dann allmählich Extraktionsflüssigkeit (zumeist Kochsalzlösung) hinzu, deren Quantum so zu bemessen ist, daß ein nicht zu schwer fließender Organbrei entsteht. Der Organbrei wird durch steriles Filtrierpapier filtriert oder durch sterilisiertes Koliertuch koliert und zentrifugiert. Das Filtrat oder die obenstehende Flüssigkeit sind zum Injizieren zu benutzen.

Da die Filtration durch Papier sehr langsam erfolgt, hat man auch Asbest- und Sandfiltration in Anwendung gebracht, eine Methode, die auch zur Vorfiltration benutzt wird, wenn man Organextrakte keimfrei filtrieren will. Eine solche Vorrichtung beschreibt UHLENHUTH (bei UHLENHUTH-HÜBENER-XYLANDER-BOHTZ): Seesandfilter, bestehend aus Glastrichter, welcher unten mit einer 3 cm starken lockeren Asbestschicht und darüber mit einer 10 cm starken Seesandschicht zur Hälfte gefüllt ist. Befestigung mittels durchbohrten Gummistopfens auf Saugflasche.

Daß man bei allen Manipulationen aseptisch verfahren muß, bedarf weiter keiner Ausführung, man wird da bei einiger Ueberlegung die richtigen Maßnahmen herausfinden; besonders sei hervorgehoben, daß man alles schnell hintereinander ausführen soll und daß Zerkleinern, Filtrieren, Zentrifugieren am besten nicht im warmen Zimmer zu geschehen haben.

Kommt es darauf an, solchen Organextrakt ohne Zusatz von Chemikalien eine Zeitlang zu konservieren, so stößt man auf große Schwierigkeiten, da er ja für alle möglichen Bakterien einen günstigen Nährboden abgibt.

Die Verunreinigungsgefahr beginnt mit dem Tod der Tiere, denen die Organe zu entnehmen sind. Wartet man auch nur wenige Stunden, so ist damit zu rechnen, daß Darmbakterien in die Organe eindringen, namentlich wenn die Tiere nicht auf Eis aufbewahrt wurden; aber auch das schützt wegen der nur langsam abnehmenden Eigenwärme nicht. Ist man verhindert, die Extraktion sofort nach der Tötung der Tiere vorzunehmen, so sollten die Organe wenigstens sofort herausgenommen und vor Verunreinigung geschützt auf Eis aufbewahrt werden.

Will man sich keimfreie Filtrate herstellen, so ist zu berücksichtigen, ob die Filter (Kieselgur, Porzellan) schon vorher einmal verwendet worden sind oder nicht: im ersteren Falle können die im Filter zurückgehaltenen Stoffe in das spätere Filtrat übergehen und zu groben Täuschungen Anlaß geben, man denke z. B. an die Antigendarstellung bei Präzipitinversuchen.

Es empfiehlt sich, nach gründlicher Reinigung des Filters mit der Bürste innen und außen — bei nichtinfektiösem Material am besten unter der Wasserleitung — alsbald eine Rückspülung vorzunehmen, den Filter sodann im Dampftopf zu sterilisieren und längere Zeit Kochsalzlösung durchzuspülen. Das Filtrat muß sich als eiweißfrei erweisen.

Zerkleinerungsapparate.

Sie bieten zum Teil nicht nur Bequemlichkeit, sondern ermöglichen auch eine sorgfältigere Aufschließung, ein schnelleres Arbeiten und besseren Schutz vor Verunreinigungen.

1. Die gewöhnlichen Fleischschneidemaschinen leisten meist nur Unbefriedigendes, man muß das Material die Mühle mehrfach passieren lassen, aber auch dann ist die Aufschließung noch ungenügend. Für sehr kleine Quantitäten Rohmaterial liefert das Alexanderwerk A. von der Nahmen A.-G. geeignete, auch sterilisierbare Modelle.

2. Besseres als die gewöhnlichen Fleischschneidemaschinen leistet der nach A. KOSSELS Angabe von RINCK gefertigte Apparat, der die Organe (und ganze Tiere) im hartgefrorenen Zustande durch eine Fräsevorrichtung (6000 Schnitte in der Minute) in eine schneeartige Masse verwandelt. Erfahrungen über die aseptische Gewinnung der zerkleinerten Masse stehen noch aus. Beschreibung nebst Abbildungen bei A. KOSSEL.

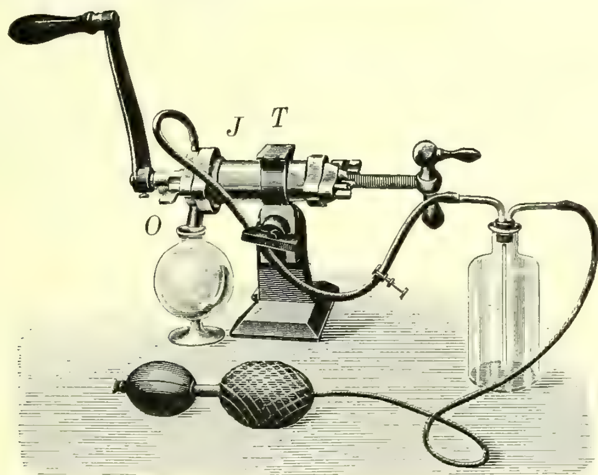


Fig. 9.

3. Eine aseptische Zerdrückung und Zerschneidung von Organen, Tumoren usf. gestatten die Apparate von LATAPIE (Fig. 9) sowie von W. HOFFMEISTER-Berlin (Fig. 10). Beide Apparate sind leicht

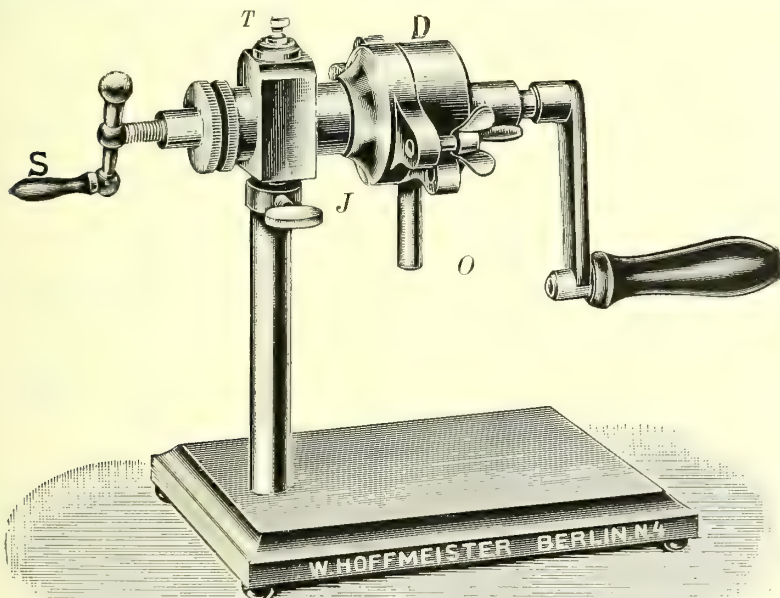


Fig. 10.

sterilisierbar, die klein geschnittenen Organstücke werden durch eine obere Oeffnung (*T*) in einen horizontal liegenden Metallzylinder (*J*) eingebracht und durch Drehen an der Schraube *S*, die sich in einen dem Zylinder angepaßten Kolben fortsetzt, gegen eine Stahlscheibe gedrückt. Diese enthält runde Messer und ist mittels einer Kurbel drehbar gegen eine feste, mit Löchern versehene Scheibe. Bei *O* fließt der durch diese Kombination von Zerdrücken, Zerreiben und Zerschneiden erhaltene sehr dünne Brei ab, der sofort oder nach Verdünnen injektionsfähig ist. Ist die Masse zu dickflüssig, so kann durch einen Schlauchansatz Flüssigkeit (Kochsalzlösung) zugegeben werden. Die nähere Beschreibung der Zerschneidetechnik ist bei LATAPIE nachzulesen. HOFFMEISTER gibt im Prospekt auch eine Vorschrift für Reinigung und Sterilisierung. Beide Apparate werden für kleinere und größere Mengen geliefert.

Hier ist auch auf die Lymphverreibungsmaschinen zu verweisen, s. Bd. VI.

4. Zur Gewinnung von Organpreßsäften ist die BUCHNERsche Presse geeignet, man hat dabei den Vorteil, ein völlig klares, sofort verwendbares Antigen zu erhalten. Der Presse werden zur Zeit auch geeignete Preßgefäße für kleinere Substanzmengen beigegeben (vgl. Bd. I, S. 549).

Einen sterilisierbaren Zerkleinerungsapparat, der z. B. die konsistente Nierensubstanz sehr fein verteilt, konstruierte NÉFÉDIEFF. Der Apparat ist eine Schraubenpresse und ermöglicht das Arbeiten mit kleinen Organmengen, die in eine gebrauchsfertige Emulsion verwandelt werden (beschrieben bei NÉFÉDIEFF).

Uebrigens gibt es auch einfache Pressen im Handel, die sehr wohl für manche Fälle brauchbare Antigene liefern, man kann den Preßsaft dann ja noch in beliebiger Weise weiterverarbeiten (zentrifugieren, filtrieren usf.). W. A. SCHMIDT empfiehlt die kleine Küchenpresse von Dr. KLEIN, Alexanderwerk; man erhält aus 1 kg Fleisch bis zu 200 ccm Saft. Sehr brauchbar erwies sich auch die Fleischpresse FL. Nr. 1 der Firma DUCHSCHER & Cie. in Wecker. Diese Presse kann mit einem solchen Behälter geliefert werden, daß ein Druck von 150 kg pro Quadratzentimeter erreicht wird. (Lieferant F. HUGERSHOFF, Leipzig.) Mit dieser Presse erhält man in kurzer Zeit aus 1 kg Fleisch über 400 ccm Saft.

Auch im MACFADYENschen Apparate kann die Organzerkleinerung vorgenommen werden; diese Methode eignet sich namentlich für kleinere Substanzmengen.

Den nach diesem oder jenem maschinellen Zerkleinerungsverfahren erhaltenen Organbrei kann man nach Zugabe von Kochsalzlösung oft schon sofort weiter verwenden oder man verfährt wie oben. Man kann auch die Extraktion in der Kälte vornehmen: der Brei wird mit Kochsalzlösung versetzt, durch ein Sieb gepreßt und mehrere Stunden oder 1 Tag im Eisschrank gehalten. Es empfiehlt sich Toluolzusatz und gründliches Durchschütteln direkt nach der Zugabe. Die Entfernung des Toluols geschieht mittels Filtration durch angefeuchteten Filter, das Filtrat ist mehrfach zurückzugießen. Nach anderen Beobachtungen kann die Extraktion auch mit einer physiologischen Kochsalzlösung geschehen, die 0,5 Proz. Phenol enthält. DUNBAR nimmt 0,2 Proz. Diaphtherin.

Auch der Schüttelapparat wird mit Erfolg zur Organextraktion benutzt: die Organe werden nach der Zerkleinerung mit einer Lösung von 0,85 g NaCl und 0,5 ccm Phenol in 100 ccm Aqua dest. derart versetzt, daß auf 1 g Organmasse 4—5 ccm Flüssigkeit treffen (Wassermann & Plaut). 24 Stunden langes Schütteln, scharfes Zentrifugieren, Abgießen. Bonhoff & Tsuzuki schüttelten das geschabte, mit sterilem Sand und Kochsalzlösung im Mörser zerkleinerte Muskelfleisch 2 Stunden im Schüttelapparat, filtrierten durch sterile Tücher und preßten die letzten Flüssigkeitsreste durch die mit sterilem Gummihandschuh versehene Hand. Aufbewahren des Fleischsaftes im Eisschrank, Injektion nach Sterilitätskontrolle.

Beispiele der Präzipitinogenherstellung aus Fleisch nebst Präzipitingewinnung.

Gewinnung von Muskelsaft.

Ein ca. 1/4 kg schweres, fascienfreies Stück Fleisch wird in der Flamme des Bunsenbrenners allseitig abgebrannt oder 1 Minute in kochendem Wasser gehalten und dann auf steriler Unterlage mit sterilem Messer halbiert. Von den Schnittflächen schabt man mit dem Messer ca. 50 g Fleischmasse ab, bringt diese in einen sterilen Mörser und zerreibt und stampft sie, bis sie eine zähe zusammenhängende Masse bildet. Durch allmählichen Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung (bis zur doppelten Gewichtsmenge) verwandelt man das Ganze in einen dicken Fleischbrei. Dieser bleibt nach Zusatz von 10—20 Tropfen Chloroform 2—3 Stunden im Eisschrank, wird durch ein feines Haarsieb gegossen und ist dann gebrauchsfertig. Es ist zweckmäßig, den Fleischsaft gleich auf drei sterile Reagenzgläser zu verteilen, welche behufs weiterer Verwendung im Eisschrank aufbewahrt werden (Fornet & Müller).

Die Verwendung von Pferdemuskelsaft an Stelle des sonst üblichen Pferdeblutserums empfiehlt sich nach Fornet & Müller, weil die Kaninchen den Muskelsaft besser vertragen und ein wirksameres Antiserum liefern.

Ruppin entnahm das Fleisch steril, hielt es 10 Minuten lang unter Alkohol und schnitt dann mit sterilem Messer die äußeren Partien ab. Der zentrale Teil wurde in steriler Hackmaschine zerkleinert und in steriler Fleischpresse gepreßt.

Die meisten Autoren, welche Fleischpreßsaft unfiltriert als Antigen benutzten, berichten über Mißerfolge, die Kaninchen gingen an der Behandlung zugrunde (Ascoli, Piorkowski, W. A. Schmidt, Uhlenhuth-Weidanz). Der durch Berkefeldfilter geschickte Preßsaft aber wird nach W. A. Schmidt sehr gut vertragen, die Immunisierung gelingt rascher und liefert hochwertigere Sera.

Es ist noch nicht entschieden, ob die schlechte Bekömmlichkeit des unfiltrierten Saftes lediglich auf Gehalt an Bakterien beruht.

W. A. Schmidt benutzt möglichst fettfreies Muskelfleisch (das 2—12 Stunden alten Leichen entnommen wird). Das Fleisch wird in einer Fleischpresse ausgepreßt. Filtration des Saftes durch ausgekochte Berkefeldkerzen. Das Filtrat wird in der Menge von 10 ccm pro Kaninchen verwendet. Impft man mehrere, so sind mehrere Filter gleichzeitig anzusetzen, um eine Schwächung des Antigens durch die sich verstopfenden Filterkörper zu verhüten. Injektion alle 3—5 Tage. Jedesmal frischer Saft (10 ccm). Entblutung 10 Tage nach der 4. bis 7. Injektion.

Die Präzipitine entstehen auch nach Injektion von erhitztem Antigen: Fornet & Müller erhitzten Pferdefleisch auf 70°, 80° und 100° und erhielten Antisera, die in klaren homologen Eiweißlösungen

Ringbildung hervorriefen. Auch eine Erhitzung des Fleischpreßsaftes auf 75° ließ noch die Gewinnung von Antiseris mit dem Titer von 1:80000 zu (FORNET & MÜLLER).

Eine wesentliche Erleichterung für die Darstellung von Antigenen aus Organen ist dann gegeben, wenn diese das Trocknen vertragen: einmal ist man dann in der Lage, durch rasch erfolgende Wasserentziehung autolytischen Veränderungen vorzubeugen, gleichzeitig aber erhält man ein vor bakteriellen und anderen Zersetzungen geschütztes Präparat, das sich leicht konservieren und dosieren läßt: die Antigenqualitäten bleiben hierbei lange erhalten, es sind aber noch weitere Erfahrungen zu sammeln. Denn so indifferent ist das Trocknen doch nicht, wie man gemeinhin annimmt, das tritt schon dadurch zutage, daß die komplette Lösungsfähigkeit solcher Trockenpräparate bald Einbuße erleidet, um ständig abzunehmen. Jedenfalls bedarf die ganze Frage noch systematischer Bearbeitung: in erster Linie ist auf die Temperatur beim Trocknen zu achten, wissen wir doch durch POHL, daß schon bei 37° protoplasmatische Eiweißkörper gerinnen. Da meist das Bestreben obwaltet und obwalten muß, die Trocknung in kürzester Zeit eintreten zu lassen, so ist auf das Einhalten niederer Wärmegrade oft nicht Bedacht genommen worden.

Ueber die Trocknungsverfahren s. bei Antigenkonservierung S. 156.

Auch für die Trocknung von Organen dürften die Vakuumtrockenapparate heute durch den FAUST-HEIMschen Schnelleindampfapparat verdrängt werden (s. Bd. I, S. 548).



Fig. 11.



Fig. 12.

Eine sehr exakte Methode zur Ueberführung von Organen in Trockenpulverform ist von W. WIECHOWSKI ausgearbeitet worden.

Sieben des Organbreies, Versetzen mit Toluol, Ausbreiten zu dünner Schicht auf Glasplatten, Trocknung bei guter Ventilation im mäßig warmen Zimmer. Mehrmaliges Zermahlen der Trockenmasse in einer Farbreibmühle (Salbenreibmühle) zusammen mit Toluol. Extraktion auf Nutsche durch Waschen mit Toluol, nochmaliges Zermahlen des Nutschenrückstandes in der Mühle mit Zusatz von Toluol, das bei 37—40° einige Stunden mit dem Pulver in Berührung

bleibt. Schließlich wird nach abermaligem Absaugen auf der Nutsche der Kuchen zerteilt und zur Entfernung des Toluols bei 37° gehalten. Natürlich können noch andere Extraktionsverfahren angeschlossen werden (Aceton, Alkohol etc.). Diese Organpulver enthalten die Organeiweißkörper und Fermente unverändert.

Hat man das Organmaterial im trockenen Zustande vor sich, so besteht ferner der Vorteil, eine weitgehende *Zerkleinerung* vornehmen zu können durch Reiben in der Reibschale, Stampfen im Mörser usf. Von Apparaten kommen hierzu die zahlreichen Zerreibeapparate und Mühlen in Frage, wie sie in den Apotheken Anwendung finden. In den bakteriologischen Laboratorien können hierfür auch die zum Bakterienzermahlen geeigneten *Kugelmühlen* (Figg. 11—14) verwendet werden, sie werden elektrisch oder mit Wasser angetrieben. Es ist darauf zu achten, daß diese Mühlen in der Minute nicht mehr wie 60—70 Umdrehungen machen, da sich sonst die Kugeln an die Gefäßwandung anlegen und nicht mehr mahlen. Im allgemeinen sind Achatkugeln den Porzellankugeln vorzuziehen, da letztere reichlich Staub abgeben.

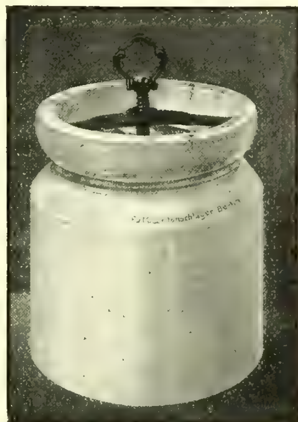


Fig. 13.

Auch in den Lympheverreibungsmaschinen nach Paul-Csokor, sowie nach Tomarkin (s. Bd. VI) u. a. kann eine Zermahlung trockener Substanz stattfinden.

Die Kugelmühlen und die sonstigen Trockenzerreibevorrichtungen bergen die Gefahr in sich, daß durch die entstehende Reibungswärme das Antigen geschädigt wird. Die Technik hat sich auch dieser Frage zugewandt und Apparate konstruiert, bei denen für Wasserkühlung in einem das Gefäß umgebenden Mantel Sorge

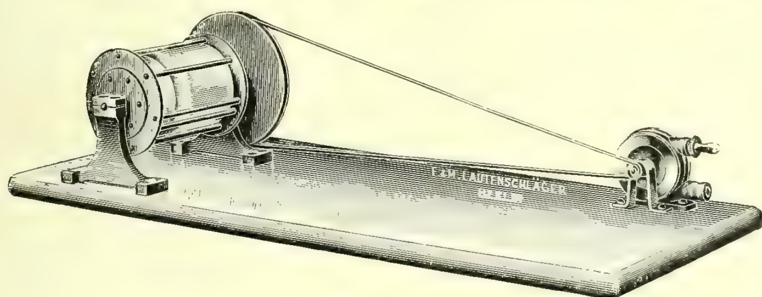


Fig. 14.

getragen ist (vgl. F. & M. Lautenschläger Spezialliste 151, Mühlen, Zerreibeapparate S. 6).

Zur Erzeugung von *Organzellantikörpern* ist man, wie erwähnt, bestrebt gewesen, die *hämolytische* Wirkung solchen Serums auszuschalten, um die spezifische Wirksamkeit zu erhalten.

Zu diesem Zweck ist das Organ, welches zur Injektion verwendet werden soll, durch sorgfältiges Auswaschen mit physiologischer Kochsalzlösung blutfrei zu machen.

Da trotzdem diese Immunseren nicht völlig frei von Hämolysinen waren, so wurden als Antigen abgetötete Organzellen oder aus ihnen hergestellte Nukleoproteide verwendet. Damit vermied man die Hämolysinbildung, aber es trat auch die Bildung spezifischer Organzellantikörper so in den Hintergrund, daß diese nur mit Hilfe der Komplementbindung nachgewiesen werden konnten, FLEISCHMANN & DAVIDSOHN bezeichnen sie als weder organ- noch artspezifisch.

Die Tatsache, daß nach Einverleibung von Organzellen auch Hämolysine als Antikörper entstehen, ist immer wieder darauf zurückgeführt worden, daß eine vollständige Befreiung des Antigens von Blutelementen bei den bisherigen Versuchen nicht stattgefunden hatte.

Indessen kann das konstante Auftreten von Hämolysinen nach der Rezeptorentheorie nichts Auffälliges sein, da wir eben doch annehmen müssen, daß verschiedene Körperzellen gemeinsame Rezeptoren besitzen (vgl. hierzu JOANNOVICS). Das dürfte vor allem der Fall sein bei solchen Organen, die in einem gegenseitigen Austauschverhältnis oder in sonst engen Beziehungen zueinander stehen.

Nach JOANNOVICS muß zur Gewinnung organspezifischer Antikörper die Immunisierung sehr lange fortgesetzt werden, er erhielt ein spezifisches Leberimmunserum erst nach 2-jähriger Vorbehandlung mit Leber. Nach einer kurzdauernden Vorbehandlung sind noch diejenigen Antikörper im Uebergewicht, die auf Einverleibung der den verschiedensten Körperzellen gemeinsamen Rezeptoren hin entstehen.

Die Giftigkeit wässeriger Organextrakte geht aus Versuchen von KRAUS & VOLK[1], JOSEPH & KRAUS, LÖWENSTEIN & VOLK, H. DOLD, CESA BIANCHI u. a. hervor; bei H. DOLD Literatur. Manche dieser Versuche leiden darunter, daß nach der innegehaltenen Methode der Extraktherstellung die Beimengung zelliger Bestandteile nicht ausgeschlossen war, was bei intravenöser Injektion natürlich schwer ins Gewicht fällt.

Die Giftigkeit, die sich besonders auf die homologe Tierart erstreckt, konnte H. DOLD abschwächen oder ganz vernichten durch mehrmaliges einfaches Stehenlassen bei Zimmertemperatur (s. auch KRAUS & VOLK), ferner durch $^1/_2$—1-stündiges Erhitzen auf 60°. Die erstere Zeit genügt nicht immer. Bei Erhitzung auf 60—61° entsteht ein durch Schütteln fein zu verteilendes Präzipitat, dessen Injektion schadlos vertragen wird. Die Entgiftung erfolgt auch durch Filtration (BERKEFELD). Ueber Entgiftung der Organextrakte durch Serum s. H. DOLD.

CESA BIANCHI empfiehlt zur Verhütung von Vergiftungserscheinungen die Injektion nach BESREDKA (s. Anaphylaxie sowie S. 128); doch ist hierbei die Resistenz nur kurzdauernd (2 Tage).

Präzipitinogen aus Knochen stellten STEFFENHAGEN & CLOUGH in der Weise her, daß sie die Knochen bei 37° im Brutschrank trockneten, in sterilen Mull einwickelten und auf einem Ambos mit schwerem Hammer zerklopften. Das Knochenpulver wurde mit warmem, mehrfach erneuertem Benzin behandelt, bis dies Extraktionsmittel klar blieb. Nach Trocknung des Knochenpulvers wurde dies mit physiologischer Kochsalzlösung ausgezogen, bis der Auszug Eiweißgehalt aufwies.

Von anderen Eiweißantigenen seien erwähnt:

1. Milch.

Man wird sie möglichst keimarm zu gewinnen suchen. MORGENROTH erwärmte sie zur Herabsetzung des Bakteriengehaltes auf 60°. SCHÜTZE sterili-

sierte die rohe Milch durch Chloroform (das man durch vorsichtiges Erwärmen oder Ausschleudern entfernen kann). Auch gekochte Milch wurde mit Erfolg verwendet. Zur Präzipitingewinnung werden Kaninchen mit 10 bis 40 ccm mehrmals nach den oben entwickelten Grundsätzen vorbehandelt.

Verwendung der einzelnen Eiweißkörper der Milch als Antigene siehe P. TH. MÜLLER[3], [4].

2. Eiereiweiß.

Gewinnung: Die Eier werden sauber gereinigt und vorsichtig aufgeschlagen. Man läßt das Eiweiß in ein mit steriler physiologischer Kochsalzlösung versehenes Becherglas einlaufen und schlägt mit einem sterilen Glasstabe (UHLENHUTH[3]).

Kaninchenbehandlung: wie oben.

3. Präzipitinogen aus Honig stellt THÖNI in der Weise her, daß er 200—400 g durch Erwärmen leicht flüssig macht, 24 Stunden dialysiert (zur Zuckerentfernung), dann mit pulverisiertem Ammonsulfat die Eiweißsubstanzen fällt. Der Niederschlag wird nach Lösung in Wasser wieder dialysiert (zum Fortschaffen des Ammonsulfats). Danach Zusatz von 0,5 Proz. Toluol.

Kaninchen erhalten 5—15 ccm subkutan oder 5—10 ccm intravenös oder 10—15 ccm intraperitoneal.

Vgl. auch GALLI-VALERIO und BORNAUD (Dialysieren des Honigs, Ammonsulfatfällung).

3. Immunisierung mit Protozoenmaterial.

Immunisierungsversuche mit Protozoenmaterial sind im Laufe der voraufgehenden Darstellung an verschiedenen Stellen erwähnt. Hier sei ergänzend angefügt, daß man sich, will man die im Blut befindlichen Trypanosomen als Antigene benutzen, zur Trennung dieser von den Blutkörperchen, deren Injektion zu Schädigungen führen kann (Ueberempfindlichkeit), des Zentrifugierens bedient: Die spezifisch leichteren Trypanosomen sammeln sich dann oberhalb der Blutkörperchen an. Dies Verfahren ist von M. MAYER, LANDSTEINER, LANGE mit Erfolg benutzt worden. Der letztere beschreibt die Manipulationen eingehender (Entbluten von infizierten Ratten, Mäusen oder Meerschweinchen, Auffangen des Blutes in 1,5-proz. Natr.-citric.-Kochsalzlösung, bei Mäusen 4—6 ccm, bei Ratten und Meerschweinchen 12—14 ccm dieser Lösung; 10—15 Minuten lang zentrifugieren, Wasserzentrifuge mit 1200—1500 Umdrehungen, die Parasiten sammeln sich als weiße bis weißlich-rosa Scheibe oberhalb der Erythrocyten an).

Nach UHLENHUTH[2] lassen sich auf die gleiche Weise auch Recurrens-, Syphilis- und Hühnerspirochätenaufschwemmungen für Immunisierungszwecke herstellen, bei Hühnerspirillose war eine aktive Immunisierung auch durch Injektion (1—2mal) der mit Antiformin aufgelösten oder mit Karbol abgetöteten Suspension zu erzielen.

Man kann sich auch Trypanosomenextrakte herstellen, indem man die in einem geringen Volumen physiologischer Kochsalzlösung suspendierten Parasiten bei 37° hält, es tritt Autolyse ein. Kontrolle durch mikroskopisches Präparat. Filtration. Diese Extrakte haben sich bisher als sehr wenig brauchbar erwiesen, nur die von Trypanosoma Brucei gewonnenen wirkten als Präzipitinogen. Immunisierung gegen Infektion gelang mit Extrakten nicht (vgl. im übrigen Bd. VI).

2. Infusorien.

Es liegen Versuche mit Glaucoma und Paramäcien vor. Materialbeschaffung, Antigendarstellung und Immunisierung ist beschrieben bei Rössle.

VIII. Fermente als Antigene.

Bei der Unsicherheit, die auf diesem Gebiete herrscht, und bei dem rein theoretischen Interesse, über das die Frage der immunisatorischen Erzeugung von Antifermenten nicht hinausgekommen ist, mag es genügen, diejenigen Arbeiten, in denen sich Angaben über die Methodik finden, nur aufzuzählen. Ueber alle theoretischen Bedenken, die sich der Auffassung der Fermente als Antigene entgegenstellen, orientieren die Ausführungen C. Oppenheimers im allgemeinen Teil seines Werkes: Die Fermente, hier finden sich, wie auch in der speziellen Darstellung, ausführliche Angaben über die Darstellung der Fermente, aus denen zu ersehen ist, daß bei den meisten Immunisierungsversuchen die Forderung, das Antigen rein zu verabreichen, nicht erfüllt worden ist und zum Teil auch gar nicht erfüllt werden konnte. Dadurch wird es verständlich, daß die bisherigen Versuche sehr ungleichmäßige Ergebnisse geliefert haben: es wurde eben nicht das Ferment allein appliziert, sondern je nach Darstellungs- und Reinigungsmethode eine mehr oder weniger große Menge von Begleitstoffen, unter denen die eiweißhaltigen nun ebenfalls als Antigene zu berücksichtigen sind. Es sind deshalb auch die Angaben über Injektionsdosen, Giftigkeit des Antigens usf. wenig verwertbar, man weiß eben nicht, was in den betreffenden Fällen auf Rechnung der anhaftenden Substanzen zu setzen ist. Vor allem aber stößt auch die Methodik des Antifermentnachweises auf große Schwierigkeiten (vgl. Oppenheimer, Allg. Teil., S. 132), es existiert noch keine Methode, die eine in bezug auf die Antikörperquantität an die Antitoxinbildung heranreichende Fermentimmunisierung ermöglicht.

Schließlich ist hervorzuheben, daß die Auswahl des Versuchstieres eine wichtige Rolle spielt. Handelt es sich um tierische Fermente, so gilt im allgemeinen der Satz, daß für die Immunisierung ein Organismus geeigneter ist, der keine oder nur geringe verwandtschaftliche Beziehungen zu dem fermentliefernden Organismus hat. (Antipepsin bildeten nach Sachs Gänse, nicht Hunde oder Ziegen.)

A. **Hydrolytische Fermente** (Hydrolasen).

I. Proteolytische Fermente (Proteasen).

1. v. Dungern[1, 2] (Bakterienproteasen: Milzbrand, Cholera, Staphylokokken).
2. K. Glässner und V. Rosculec.
3. M. Hahn (Hefe-Endotryptase als Antigen).
4. K. Meyer (Behandlung von Kaninchen mit Proteasen des Prodigiosus und Pyocyaneus).
5. Trypsin:
   a) Landsteiner (negativer Versuch bei Kaninchen).
   b) Dean, Behandlung von Gans, Ziege.
   c) Achalme, Pankreatin aus Schweinepankreas, Behandlung von Meerschweinchen.
   d) Bergell & Schütze (Pankreatinum purissimum Rhenania-Aachen). Behandlung von Kaninchen, negativ.
   e) Jochmann & Kantorowicz.
   f) v. Bergmann.
   g) Bayliss & Starling (reines Trypsinogen, negativ).

6. Leukoprotease: JOCHMANN.
7. Pepsin: H. SACHS[3], Behandlung von Gänsen mit Peps. Witte.
8. Papayotin.
   a) ACHALME, Behandlung von Meerschweinchen, negativ.
   b) v. STENITZER (Ziegen).
   c) BERGELL & SCHÜTZE (s. oben).
   d) EHRENREICH.
   e) POZERSKI, (bei d und e Kaninchen, negativ).

II. Amidspaltende Fermente. Urease.

1. MOLL (Behandlung von Kaninchen mit Alkoholpräparaten aus Kulturen von Microc. ureae Pasteur).
2. M. HAHN[3], Acetonpräparat aus der gleichen Kultur, negatives Resultat.

III. Saccharifizierende Fermente (Karbohydrasen).

a) Amylase (Diastase). SCHÜTZE & BRAUN (Behandlung von Kaninchen subkutan mit Diamalt), s. auch PRETI, ferner GESSARD & WOLFF, ASCOLI & BONFANTI (Pankreasamylase).
b) Inulinase benutzte SAIKI als Antigen (gewonnen von Aspergillus niger, Behandlung von Kaninchen).
c) Invertase: SCHÜTZE & BERGELL (subkutane Behandlung von Kaninchen mit Invertin Merck).
d) Laktase: SCHÜTZE, A.[1], Kefirlaktase, subkutane oder intramuskuläre Behandlung von Kaninchen, Hühnern.
e) Emulsin: 1) BEITZKE & NEUBERG (KAHLBAUMS Emulsin, gereinigt, subkutan Kaninchen). 2) HILDEBRANDT (Kaninchen per rectum).

IV. Koagulasen.

1. Lab.
   a) MORGENROTH[1, 2], Präparat aus WITTEschem Labpulver, ferner Cynarase-Rasetti, subkutane Behandlung von Ziegen.
   b) BRIOT.
2. Fibrinferment: BORDET & GENGOU[1], Behandlung von Meerschweinchen und Kaninchen mit fibrinfermenthaltigem Serum.

V. Lipase.

1. SCHÜTZE, A.[2], Steapsinlösung von GRÜBLER, subkutane Behandlung von Kaninchen.
2. BEITZKE & NEUBERG (dasselbe Antigen wie bei SCHÜTZE).
3. BERTARELLI (Lipasen pflanzlicher — Nüsse, Rizinussamen, Steapsin GRÜBLER — und tierischer Herkunft — Serum-, Bauchspeicheldrüsen- und Leberlipasen, Behandlung von Kaninchen, Hunden. Die tierischen Lipasen zeigten keine Antigen-Eigenschaften).
4. BRAUN (Lipasen aus Abrussamen).

B. Oxydasen.

1. Tyrosinase.
   a) GESSARD[1]: Pflanzliche Tyrosinase aus Russula- und Lactarius-Arten, Behandlung von Kaninchen subkutan.
   b) v. FÜRTH & JERUSALEM (Tyrosinase vom Tintenfisch, negatives Ergebnis).
2. Lakkase.
   a) GESSARD[2]: Behandlung von Kaninchen.

C. Gärungsenzyme.

1. HAHN, M.[3], Dauerhefe Zymin von SCHRÖDER-München, ferner frischer Preßsaft, Behandlung von Kaninchen, negatives Ergebnis.
2. JACOBSOHN (Zymin), Behandlung von Kaninchen, Ziege.

D. Katalase.

DE WAELE & VAN DE VELDE (negatives Ergebnis).

B. Weiteres über Antigene.

I. Art der Verabreichung.

Die Technik der Antigeneinverleibung deckt sich mit der bei den verschiedenen Infektionsmodis anzuwendenden (s. Bd. I, S. 491 ff.).

Die Auswahl des Applikationsmodus richtet sich in erster Linie nach dem Zwecke der Impfung (Schutzimpfung, Antikörperdarstellung), nach Art des Impflings, Art und Menge des Antigens.

Da sich nicht nur die einzelnen Rassen, sondern auch die einzelnen Individuen nach Antigenzufuhr hinsichtlich der Antikörperbildung verschieden verhalten, so ist es schwer, allgemeine Gesetze abzuleiten: systematische Versuche, die ein großes Material erfordern, liegen nur wenige vor und Einzelbeobachtungen zu verwerten, verbieten die eben angegebenen Gründe.

Hinsichtlich der Produktion bestimmter Antikörper müßten am ehesten die Erfahrungen der Serumgewinnungsanstalten zu verwerten sein, da in diesen ja das praktische Interesse obwaltet, die rationellste Applikationsweise ausfindig zu machen. Aber selbst hier sind die Angaben oft weitgehend verschieden, z. B. bei der Diphtherieantitoxingewinnung, offenbar deshalb, weil in den einzelnen Anstalten ungleiche Tierrassen, vor allem verschiedene Antigene zur Verwendung kommen.

Eine ganze Reihe wissenschaftlicher Fragen der Immunitätslehre lassen sich überhaupt nur entscheiden, wenn man sich genau der gleichen Applikationsweise bei vergleichenden Versuchen bedient, so z. B. bei Versuchen über die Wirkung eines bestimmten Quantums Antigen auf verschiedene Tierarten. Das ist in der Immunitätstechnik ziemlich lange vernachlässigt worden. Wie aus den Versuchen von Dreyer & Madsen sowie von Morgenroth[3] hervorgeht, entfaltet ein für Meerschweinchen neutrales und subkutan verabreichtes Gemisch von Diphtherietoxinantitoxin bei intravenöser Verimpfung auf Kaninchen Toxinwirkung, die nähere Untersuchung durch Morgenroth ergab, daß die Annahme eines prinzipiell verschiedenen Verhaltens der beiden Tierarten nicht richtig ist, daß vielmehr die Differenzen in der verschiedenen Infektionsart begründet sind.

Zur Vermeidung von Ueberempfindlichkeit wird es unter Umständen angezeigt sein, nicht dauernd an einem und demselben Impfmodus festzuhalten, sondern abzuwechseln.

Die anaphylaktischen Störungen lassen sich nach Besredka[3, 4] vermeiden, wenn man mehrere Stunden vor der eigentlichen Injektion die Tiere mit kleinen Dosen zur Erzeugung von Antianaphylaxie vorbehandelt (Vorimpfung). Diese Methode empfehlen Briot & Dopter[2] auch für die Reinjektionen bei der Immunisierung von Pferden mit Meningokokken. de Gasperi empfiehlt für die Hämolysingewinnung kleine Dosen gewaschener Blutkörperchen intraperitoneal mehrere Stunden vor der intravenösen Injektion. Es wäre eine wesentliche Vereinfachung, wenn die Desensibilisierung auch durch Verfütterung des Antigens zu erreichen wäre: in manchen Fällen ist das in der Tat möglich (Besredka[5] Meerschweinchen, Desensibilisierung durch orale oder rektale Einverleibung bei Behandlung mit Milch, Serum, Eiereiweiß).

Die Gefahr der Ueberempfindlichkeit ist am größten bei intravenösen Injektionen der Antigene, vgl. im übrigen hierzu Kapitel Anaphylaxie.

Ueber die Beeinflussung der negativen Phase durch die Auswahl des Injektionsmodus s. Noon.

Inwieweit die Bestrebungen, für die Applikation des Antigens möglichst den Weg zu wählen, den die natürliche Infektion einschlägt, von Erfolg sein werden, muß die Zukunft lehren. Für die Herbeiführung lokaler Immunität tritt besonders v. Wassermann warm ein. Es ist ja auch mehrfach zutage getreten, daß bei Handhabung einer bestimmten Impfmethode der Schutz sich nur bei einer bestimmten Art der Zufuhr von lebendem Virus äußert, bei anderem Infektionsmodus versagt. So haben z. B. R. Pfeiffer & A. Wassermann, ferner Sobernheim gezeigt, daß Meerschweinchen, die auf subkutanem oder intraperitonealem Wege gegen die intraperitoneale Injektion tödlicher Mengen geschützt waren, keine Immunität gegen den per os erzeugten Prozeß aufwiesen. Ebenso geht aus den Versuchen von K. Wolf hervor, daß die subkutane Vorbehandlung von weißen Mäusen mit Paratyphus-(B-)Bacillen wohl gegen die subkutane Infektion, aber nicht gegen die Verfütterung von Mäusetyphusbacillen schützt.

Für die aktive Immunisierung kommen als wichtigste Arten der Antigeneinverleibung die subkutane, intravenöse und intraperitoneale in Betracht.

1. Subkutane, intravaskuläre und intraperitoneale Impfung.

Die subkutane Methode ist die am einfachsten zu handhabende, sie ist auch die ungefährlichste, weshalb sie ja auch für die aktive Immunisierung des Menschen in erster Linie in Anwendung kommt. Wie schon von den Infektionsversuchen her bekannt ist, findet bei diesem Applikationsmodus eine relativ langsame Resorption statt. In bezug auf die Resorptionsgeschwindigkeit dürfte es statthaft sein, die von E. J. Levin bei Einführung von Antikörpern (Coliagglutinin, Typhusagglutinin, Vibrioantilysin) festgestellten Tatsachen als allgemeingültig zu betrachten. Darnach findet bei subkutaner (und intramuskulärer) Applikation eine viel langsamere Resorption statt als bei der intravenösen und erreicht ihr Maximum, das nicht entfernt an das bei der intravenös erfolgenden heranreicht, erst am 3. Tage.

Für die vergleichende Betrachtungsweise ist auch die Flächenwirkung zu berücksichtigen: bei der subkutanen Methode betrifft der Antigenreiz nur eine geringe Zellenfläche, in vielen Fällen werden die antikörperbildenden Zellen von dem Antigendepot weit entfernt liegen. Bei intraperitonealer Applikation verteilen wir das Antigen auf eine große Oberfläche, die sich infolge der raschen Resorption meist bald vergrößert: Das Antigen wird in diesem Falle auch schneller zu den geeigneten antikörperproduzierenden Organzellen gelangen, der Reiz setzt rasch ein, die Erschütterung des Organismus ist eine intensive, aber es hält der Reiz nicht so lange an, wie beispielsweise bei der intramuskulären oder subkutanen Verabreichung. Von Interesse ist die von Rintelen bei subkutaner und intraperitonealer Immunisierung mit Typhusbacillen beobachtete Verschiedenheit der Avidität der Seren. Rintelen fand bei subkutaner Immunisierung die Seren von höherer Avidität aber geringerem Titer, bei intravenöser Behandlung geringe Avidität bei hohem Titer.

Der Immunisierungseffekt kann aber auch bei Variation derselben Art der Antigenverabreichung ein verschiedener sein, so bietet die Subcutis je nach der anatomischen Beschaffenheit dem Antigen verschiedene Angriffspunkte: das straffe Unterhautbindegewebe, wie es z. B. am Schweif der Rinder sich findet, hindert bei der Rauschbrandschutzimpfung die rasche Ausbreitung des Infektionsprozesses: daher ist diese Methode ungefährlicher als die subkutane Verimpfung desselben Impfstoffs an der Schulter, im letzteren Falle werden mehr Impftodesfälle beobachtet.

Befinden sich Bakterien in stark abgeschwächtem Zustande, so können sie von der Subcutis der Schwanzwurzel aus keinen oder nur einen geringen Immunisierungseffekt ausüben (Kolle-Otto, bei Ratten, Pestimmunisierung).

So unerwünscht die langsamere Resorption bei subkutaner (oder intramuskulärer) Einfuhr für Infektionsversuche oft sein mag, so ist doch gerade dieser Umstand für Immunisierungszwecke in vielen Fällen sehr wesentlich: das Antigen reizt dann den Organismus über eine lange Zeit hin, es wird ein Antigendepot in dem Impfling geschaffen, von dem aus fortwährend die Anregung zur Antikörperbildung ausgehen kann. Stark wirksame Antigene werden damit abgemildert, so die Vibrionentoxine, die von der Subcutis aus vertragen werden, während dieselben Dosen intravenös die Kaninchen töten.

Ein Vergleich der tödlichen Giftdosen bei intravenöser und subkutaner Applikation ergibt, daß bei dem intravenösen Modus kleinere Dosen genügen. (Beispiel: Diphtherietoxin, Meerschweinchen, Dosis let. subkutan 0,011 ccm, Dosis let. intravascularis 0,004—0,0045 ccm, also mehr als $2^1/_4$mal geringer wie bei subkutaner Injektion [Morgenroth[3]]). Es wird bei subkutaner Injektion ein Teil des Giftes in diesem Falle 64 Proz. der verabreichten tödlichen Dosis von 0,011 ccm örtlich gebunden. Die lebhafte Reaktion der Zellen der Cutis und Subcutis ist ein Ausdruck dieser Rezeptorenbindung, sie äußert sich in der lokalen Entzündung, Nekrose, Haarausfall.

Hinsichtlich der Antikörperproduktion gibt die subkutane Methode offensichtliche Vorteile bei der Diphtherietoxineinverleibung gegenüber der intravenösen: nach Ehrlich zeigt sich bei subkutaner Injektion von Diphtherietoxin bei Meerschweinchen eine Lähmungserscheinung nur sehr selten, überhaupt nicht mehr bei Giftmengen unter $^1/_2$ der Dosis letalis subcutanea. Injiziert man intravaskulär, so sind die Lähmungen häufiger, auch kommen bei $^1/_2$ der dos. let. noch solche vor. Vgl. auch Dzerzgowski[1] sowie die Antitoxinkurven Madsens. Forssman hatte bei der Immunisierung (Ziege) gegen Botulinustoxin, Neisser & Wechsberg bei Immunisierung gegen Staphylolysin auf subkutanem Wege günstigere Resultate als auf intravenösem. Ungeeignet fanden die intravenöse Methode bei der Immunisierung von Pferden gegen Meningokokken wegen der Schwere der Erscheinungen u. a. Flexner & Jobling, Briot & Dopter[1] usf.

Bei der intravenösen Injektion von Vibriolysin (V. Nasik) hingegen konnte Tallquist bei Kaninchen mit Dosen (2 ccm), die bei subkutaner oder intraperitonealer Applikation überhaupt keinen Ausschlag gaben, eine sehr starke Antikörperproduktion wahrnehmen; bemerkenswert ist der späte Beginn (9.—10. Tag) und der langsame Anstieg zum Maximum am 19—23. Tag bei intravenöser Zufuhr, während Forssman das Maximum der Antikörperbildung gegen Botulinusgift nach intravenöser Injektion am 10. Tage, hingegen nach subkutaner Zufuhr am 15. Tage fand.

Hinsichtlich der bakteriolytischen Choleraambozeptoren stellte V. E. Mertens fest, daß ihre Bildung bei Kaninchen nach intravenöser Injektion reichlicher erfolgt als bei subkutaner, die Applikationsdosis schwankte zwischen $^1/_5$ und $^1/_{20}$ Oese virulenter, bei 55—60° abgetöteter Kultur. Einmalige Injektion. Blutentnahme 7 Tage nachher, zur Verwendung kamen je 3 Kaninchen vom Gewicht 1050—1690 g, der Titer nach subkutaner Injektion betrug 0,06, 0,004, 0,007, nach intravenöser Injektion 0,0002, 0,0002, 0,0004 g Serum.

Gerade aus dem Beispiel der Choleraimmunisierung erhellt, wie wichtig für die Auswahl des Injektionsmodus auch die Menge des Antigens ist: die Mertensschen Resultate, die ohnehin an einem sehr kleinen Tiermaterial gewonnen wurden, sind für die übliche Immunisierung im Laboratorium wenig maßgebend, da sie nur den bakteriolytischen Titer nach einer einmaligen, recht kleinen Dosis berücksichtigen. Wendet man größere Dosen an, so liegen namentlich bei mehrfacher Verabreichung des Antigens bei der gleichen Tierart die Verhältnisse ganz anders: R. Pfeiffer & Marx, die 2000 g schwere Kaninchen mit dem Belag dreitägiger, in 5 ccm Bouillon aufgeschwemmter und bei 70° 1 Stunde lang gehaltener Cholerakulturen behandelten, erhielten die günstigsten Resultate bei subkutaner, an 2 Stellen erfolgender Injektion: bei intravenöser Verabreichung, die starke Intoxikationserscheinungen zur Folge hatte, wurden weder rascher noch stärker Antikörper gebildet (allerdings erfolgte bei diesen Versuchen die Entblutung früher).

Kolle hält auf Grund seiner Erfahrungen im allgemeinen die subkutane und intraperitoneale Methode zur schnellen Erzeugung von Bakteriolysinen (Cholera) für geeigneter als die intravenöse.

Bei der intravenösen Applikation des Impfstoffes besteht die Gefahr der Luftembolie. Im allgemeinen wird diese Gefahr wohl überschätzt. Auf ihr Konto sind oft Impftodesfälle gesetzt worden, die andere Ursachen hatten (Koagulation, Präzipitation, Agglutination?). Man kann in den Laboratorien beobachten, daß die Tiere nicht zugrunde zu gehen brauchen, wenn Luft mit in das Gefäßsystem eintritt. Aber selbstverständlich wird man das zu vermeiden haben. Am leichtesten ist dies möglich, wenn man die Injektionsflüssigkeit zunächst bei abgehobener Kanüle in die Spritze einsaugt, darnach durch Druck auf den Spritzenstempel unter senkrechter Haltung der Auslauföffnung nach oben die Luft ausbläst, nun die Kanüle aufsetzt und durch weiteren Druck auf den Stempel die Kanülenluft entfernt. Mitunter befördert gleichzeitiges schwaches Klopfen den Austritt der Luft, das macht sich sogar nötig, wenn der Spritzenauslauf (beim Kanülenansatz) nicht konisch verläuft, hier sind die am peripheren Teil des Stempels sich anheftenden Luftblasen durch Neigen und Klopfen zu mobilisieren und zu entfernen.

Nötig ist ferner, daß die Kanüle paßt und fest aufgesetzt wird, schließt sie die Luft nicht völlig ab, so kann diese in beträchtlicher Menge beim Druck auf den Stempel eingesaugt werden.

Die intravenöse Applikation der Antigene ist heute wohl die am meisten geübte, und es herrscht die Ansicht, daß sie die größte Summe von Antikörpern ergibt. Das ist aber wohl nicht für alle Fälle zutreffend, für die Erzeugung eines Meningokokkenserums glaubt St. Baecher die subkutane Methode der intravenösen als nicht zurückstehend bezeichnen zu dürfen, hiermit steht allerdings die Erfahrung

von A. WASSERMANN (s. WASSERMANN & LEUCHS) in Widerspruch, der bei der intravenösen Verabreichung von Meningokokken die stärkste Ambozeptorenbildung auftreten sah, freilich wird zu berücksichtigen sein, daß es sich hierbei lediglich um die Feststellung der komplementbindenden Stoffe des Meningokokkenserums handelte. Vgl. auch KOLLE (Erzeugung von Bakteriolysinen s. S. 131).

Von der intravaskulären (und intrakardialen) Einimpfung ist dann Abstand zu nehmen, wenn Blutgerinnung zu befürchten ist, die Tiere gehen infolge der Thrombenbildung zugrunde. Das ist z. B. der Fall, wenn frisches defibriniertes Blut, frisches Serum oder frische serumfreie Erythrocyten injiziert werden; wie MOLDOVAN beobachtete, gehen die Tiere unter anaphylaxieartigen Erscheinungen sofort zugrunde. Schon nach $^1/_2$ Stunde verschwindet die labile gerinnungerregende Wirkung dieses intravaskulären Antigens. (Vgl. S. 115.)

Die Todesursachen nach intravenöser Injektion von artfremdem Blutserum studierten LOEB, STRICKLER & TUTTLE, sie fanden entweder Verstopfung der Lungengefäße durch Fibrinpfröpfe, Beispiel: Behandlung von Kaninchen mit 7—10 ccm Hundeserum pro kg Kaninchen, oder Verstopfung durch agglutinierte rote Blutkörperchen, Beispiel: Behandlung von Kaninchen mit Rinderserum (s. hierzu S. 115).

Der intravenöse Modus hat sich für die Schutzimpfung des Menschen deshalb noch nicht Eingang verschaffen können, weil hierbei nach bisherigen Erfahrungen zuweilen recht schwere Allgemeinerscheinungen eintreten, zudem ist namentlich bei Massenimpfungen diese Applikationsweise unbequem. Ganz besonders eifrig ist die Frage, ob subkutaner oder intravenöser Injektionsmodus bei der Tuberkuloseimmunisierung zu wählen sei, erörtert worden: hier führt die intravenöse Einspritzung des Virus bekanntlich zu einer Beschleunigung des Krankheitsprozesses. Vor allem aber kommt bei dieser Applikation, wie schon R. KOCH erkannte, die Gift- und Fremdkörperwirkung zum Ausdruck, weshalb er ja auch bei der Differentialdiagnose von Typus humanus und Typus bovinus für die Rinderimpfung die subkutane Methode bevorzugte. Die einzelnen Tuberkulosestämme schwanken in ihrer Giftigkeit, das kommt bei der intravenösen Verabreichung bestimmter Quantitäten am stärksten zum Ausdruck, so daß z. B. die früher als Unterscheidungsmittel zwischen humanem und bovinem Typus empfohlene intravenöse Verabreichung der Kultur auf Kaninchen (1 mg) [oder auf das Rind] in Fällen versagt, wo die humane Kultur eine stärkere Giftigkeit besitzt.

Das zeigt sich auch bei Verabreichung von Hühnertuberkelbacillen: bei subkutaner Impfung sind weder Rinder noch Meerschweinchen zu infizieren, sie wirken aber trotzdem bei intravenöser Impfung stark giftig, so daß sie nach RÖMER, PEARSON u. a. zur Immunisierung von Rindern gegen Tuberkulose nicht verwendbar sind, ja MIESSNER hat sogar bei Kälbern durch intravenöse Injektion von Hühnertuberkelbacillen eine allgemeine, tödlich endende Tuberkulose hervorgerufen.

Die Ansichten, welchen Injektionsmodus man bei der Verabreichung menschlicher Tuberkelbacillen zur Immunisierung der Rinder gegen Perlsucht anwenden soll, sind noch geteilt. Den subkutanen Modus haben v. BAUMGARTEN und LIGNIÈRES empfohlen (der letztere

verwendet einmalig 0,05—0,1 ccm einer homogenen Kultur [ARLOING-COURMONT] lebender menschlicher Tuberkelbacillen). Auch HUTYRA sowie F. KLEMPERER wandten die subkutane Methode an. v. BAUMGARTEN führt zugunsten der subkutanen Methode den Grund an, daß damit eine Aussaat der injizierten Tuberkelbacillen auf alle Organe des Rindes verhütet wird, wie sie bei der intravenösen Methode erfolgt (er verabreichte Kälbern 1 cg bzw. 2 cg menschliche Tuberkelbacillen subkutan). v. BEHRING hält die subkutane Applikation des Bovovaccins für minderwertiger als die intravenöse, er glaubt, daß die an der Injektionsstelle gesetzte lokale Infektion dem Eintreten der aktiven Immunität hinderlich sei. Aus den vergleichenden Versuchen von ARLOING geht ebenfalls hervor, daß bei intravenöser Injektion eine stärkere Immunität zu erzielen ist als bei subkutaner. WEBER & TITZE erhielten bei subkutaner Injektion keine Immunität, sie verurteilen diesen Modus auch deshalb, weil bei Verabreichung frisch gezüchteter menschlicher Tuberkelbacillen durch den an der Injektionsstelle entstehenden und aufbrechenden Abszeß längere Zeit eine Propagation der menschlichen Tuberkelbacillen möglich ist.

Die subkutane Methode führt in der Tat oft zu Unannehmlichkeiten wegen des Auftretens schwerer lokaler Reaktionen: Infiltrationen, Abszessen usf., unter denen der Allgemeinzustand der Impflinge und auch die Antikörperbildung leidet. Es richtet sich die Intensität dieser Erscheinungen — aseptische Kautelen vorausgesetzt — nach der Tierart, ferner nach der Beschaffenheit des Antigens, nach der Impfdosis usf. Hat man sehr große Antigenmengen zu injizieren, so verteilt man sie zweckmäßig auf mehrere Impfstellen (oder man wählt besser den intravenösen Modus, wie bei der Gewinnung von Milzbrandpräzipitin von Eseln, Pferden usf., SCHÜTZ und PFEILER).

Aber auch bei anderen Impfmodis können schwere lokale Erscheinungen namentlich bei häufiger Injektion des Antigens auftreten und den Tod der Tiere herbeiführen, so bei intravenöser Verabreichung von Rotlaufbacillen (Endocarditis verrucosa, Entzündung der serösen Häute der Gelenke und Sehnenscheiden, wobei es sich nicht um Anaphylaxie handelt, vgl. auch SCHNÜRER).

Für die Gewinnung von Agglutininen durch Immunisierung von Kaninchen und Ziegen gegen B. coli waren nach W. LANDRAM Mc. FARLAND die subkutane, intravenöse (auch in die Mesenterialvenen), intraperitoneale und intrapleurale Methode annähernd gleichwertig.

Die direkte Injektion in das Herz wurde von J. MORGENROTH[3] empfohlen. Sie geschieht in der Weise, daß man eine ziemlich dünne, spitze Nadel links vom Sternum an der Stelle des stärksten Herzstoßes, die man durch Palpation leicht findet, einsticht, dann die vorher gefüllte und kalibrierte Spritze aufsetzt und sehr langsam injiziert. Einige Sekunden nach der Injektion nimmt man die Spritze wieder ab, überzeugt sich durch das wieder ausfließende Blut, daß sich die Kanüle nicht in der Lage verschoben hat und zieht sie dann mit einem Ruck heraus. MORGENROTH hat durch Kontrollversuche mit Farblösungen festgestellt, daß die gesamte injizierte Flüssigkeitsmenge, die bei Meerschweinchen 1,5 ccm nicht überschreiten soll, ohne Verlust in die Blutbahn gelangte.

2. Kutane Immunisierung.

Die Immunisierung auf kutanem Wege hat nur für die Pockenimpfung Bedeutung erlangt. Im übrigen besitzt sie vorläufig mehr theoretisches Interesse. W. Hoffmann[1] konnte bei Kaninchen (rasierte Bauchhaut) nach Einreiben lebender oder abgetöteter Typhusbacillen (Beginn mit 3 Kulturen, nach 5 Tagen größere Mengen usf.) Agglutininbildung 1:2000 beobachten; Kasten bestätigte das, er benutzte außer Typhus auch Cholera und Staphylokokken, außer Agglutininen fand er auch Bakteriolysine (bei Typhus und Cholera 0,005—0,002); Präzipitinbildung gelingt nach Hallwachs bei Kaninchen auf diesem Wege nicht.

Die Präparation der Impffläche geschieht wie bei der kutanen Infektion, die vor allem bei der Lymphgewinnung, bei der Pestdiagnose usf. Verwendung findet. Die Depilierung erfolgt durch Calciumhydrosulfid, vorzuziehen ist das Rasieren mit nachfolgender gründlicher Reinigung (Wasser und Seife, Wasser, Alkohol, Aether), danach Abreiben mit Sandpapier. Hierbei werden natürlich immer Epithelläsionen auftreten.

Ein rein kutanes Immunisierungsverfahren ist das von v. Wassermann empfohlene Histopinverfahren: Schüttelextrakte von Staphylokokken, konserviert mit 0,5 Proz. Karbol und Gelatine (s. S. 160) werden direkt mit dem Pinsel oder in Form einer Salbe (25—30-proz. Extraktsalbe) auf die Haut aufgetragen zur Erzeugung einer lokalen Immunität. Wie G. Michaelis (erwähnt bei v. Wassermann & Ledermann) feststellte, wird dadurch außerdem eine gewisse Allgemeinreaktion (Erhöhung des opsonischen Index) hervorgerufen. Vgl. im übrigen v. Wassermann & Ledermann.

Die intrakutane Tuberkulinapplikationsmethode wird in Bd. IV besprochen. Störend ist hierbei die mangelhafte Dosierbarkeit.

Literatur: Moussu & Mantoux, Mendel, Römer[4,5], Novotny & Schick.

Vaccineverabreichung auf intrakutanem Wege bei Kaninchen s. Novotny & Schick[2], sie betonen, daß die Methode für die Anwendung der Kuhpockenlymphe beim Menschen keinen Vorteil bietet.

Ueber die Folgen von intrakutaner Diphtherietoxinapplikation beim Menschen s. Bingel.

Ueber die Verschiedenheit der Immunisierungseffekte durch kutane, subkutane etc. Applikation von Vaccine s. die Arbeiten von Süpfle & Eisner, Hallwachs u. a. Süpfle & Eisner konstatierten, daß nach Kutaninsertion oder einmaliger subkutaner oder intravenöser Injektion kleiner Mengen von Vaccinelymphe bei Kaninchen die Cornea vaccineempfindlich bleibt.

3. Immunisierung von Conjunctiva, Nase, Trachea und Lunge aus.

Von der Conjunctivalschleimhaut aus gelingt die Immunisierung gegen Ricin, man verwendet hierzu bei Kaninchen und Meerschweinchen die Lösung 1:100000 steigend bis 1:300 (s. Ehrlich[2], ferner Gebb), es entsteht örtliche und allgemeine Immunität; desgleichen nach Einträufeln von Diphtheriegift und Tetanusgift, die conjunctivale Verabreichung des letzteren führt auch bei Hühnern und Mäusen zur Antitoxinbildung.

Ueber aktive Immunisierung des Organismus von der Cornea aus vgl. z. B. J. Strauss (Vaccine bei Kälbern), ferner Miyashita (Schweinerotlaufbacillen bei Kaninchen).

Ueber Antigenwirkung vom Augeninnern aus vgl. Elschnig, (Einführung von Choleraextrakt, Cholerabacillen, Rinder- und Hammelblut in die vordere Kammer, in jedem Falle traten Antikörper auf).

Dzerzgowsky[2] hat durch Versuche am Menschen und Pferd festgestellt, daß eine Diphtherieantitoxinbildung möglich ist durch Einführung toxingetränkter Wattetampons in die Nasenhöhle oder durch Inhalation zerstäubter Toxinlösungen. Von besonderer Wichtigkeit würde diese Methode sein, wenn sich die Resultate des Autors über die auftretende lokale Schleimhautimmunität bestätigen sollten.

Auch Blumenau berichtet, daß bei Einführung von Tampons mit 3-fach verdünntem Diphtherietoxin in die Nase (30 Min. lang, 20mal) bei Kindern eine Antitoxinbildung eintrat.

Die intratracheale Injektion ist z. B. von Besnoit, Leclainche und Morel geübt worden (bei Rindern, Antigen: Bovovaccin und Hühnertuberkelbacillen), sie wollen damit Resistenz gegen Fütterungstuberkulose erzielt haben.

Von den Luftwegen aus hat auch Scheweleff Hunde aktiv gegen Diphtherietoxin immunisiert, er verabreichte es intratracheal, intralaryngeal und ließ es auch in zerstäubtem Zustande inhalieren, Ein Vergleich mit der subkutanen Methode ergab nicht die Ueberlegenheit des einen oder anderen Verfahrens.

Die intrapulmonale Einverleibung, durch die Interkostalräume hindurch, empfiehlt für die Immunisierung gegen Diphtherietoxin bei Pferden Ph. Blumenthal; sie ist bequem zu handhaben, die Immunisierung verläuft unkompliziert und die Antikörperbildung ist eine sehr starke. Die Antigenquantität kann dabei wegen des schwammigen Baues der Lunge eine erhebliche sein. Blumenthal kombinierte diese Methode in den späteren Stadien der Immunisierung auch mit der gleichzeitigen intramuskulären Einverleibung: so konnte er ein stark antitoxinhaltiges Serum noch von einem Pferd gewinnen, das die subkutane Impfung wegen zu starker Reaktion — Fieber, Oedem — nicht vertrug.

Die anatomischen Veränderungen bei der intrapulmonalen Diphtherieimmunisierung sind von M. Lurje studiert.

4. Intramuskuläre Methode.

Verhältnismäßig selten sind bisher intramuskuläre Injektionen der Antigene vorgenommen worden, und doch würde diese Art der Verabreichung gegenüber der subkutanen Vorteile aufweisen (vgl. die Ausführungen von Morgenroth & Levy über die Resorption des Diphtherieantitoxins). Aus den S. 129 zitierten Versuchen Levins über Resorptionsgeschwindigkeit geht hervor, daß in den ersten 24 Stunden nach der Injektion bei der intramuskulären Applikation bedeutend mehr resorbiert wird als bei der subkutanen.

Zu empfehlen ist beim Menschen die Injektion in die Streckmuskulatur des Oberschenkels (laterale Seite, etwas oberhalb der Mitte des Oberschenkels); nach Einführung der Nadel in die Muskulatur ist die Spritze abzunehmen: füllt sich die Kanüle nicht mit Blut, so wird die Spritze wieder aufgesetzt und der Stempel

zurückgezogen. Wird Blut nicht aspiriert, so spritzt man langsam den Impfstoff ein.

Die intramuskuläre Methode scheint z. B. für die Immunisierung gegen Schweinepest mit erhitztem Virus nicht brauchbar zu sein: Uhlenhuth-Hübener-Xylander-Bohtz beobachteten, daß Ferkel, nach intramuskulärer Impfung mit 10 ccm filtrierter virushaltiger Flüssigkeit, die 1 Stunde bei 58° gehalten war, zwar nicht erkrankten, aber auch keine Immunität zeigten, im Gegensatz dazu akquirierten Ferkel nach subkutaner Verabreichung des gleicherweise vorbereiteten Antigens eine Infektion: es scheint demnach bei intramuskulärer Injektion das Antigen eher unwirksam zu werden.

5. Immunisierung vom Intestinaltraktus aus.

Die Möglichkeit, aktive Immunität vom Magendarmkanal aus zu erzielen, ist zum ersten Male von P. Ehrlich[2] festgestellt worden, er wählte diese Art der Darreichung von Ricin und Abrin, weil die subkutane Injektion dieser Stoffe starke örtliche Entzündungserscheinungen im Gefolge hatte.

Die Immunisierung von dem Verdauungskanal aus muß dann zu Bedenken Anlaß geben, wenn es sich um ein lebendes, vermehrungsfähiges Antigen handelt. Es bedarf noch der weiteren Untersuchung, wie sich ein solches nach der Ausscheidung verhält, so ist zu fürchten, daß per os verfütterte humane oder bovine Tuberkelbacillen durch diese Immunisierungsmethode propagiert werden können.

Methodik. Man verabreicht das Antigen mit dem Futter: so kann man Bakterienkulturmassen mit dem festen Futter in Berührung bringen, zweckmäßiger ist es, das Futter zu zerkleinern und die Bakterien zuzumischen. Ist das Futter porös (Brotstückchen), so tropft man Bakteriensuspensionen direkt auf. Man kann auch das Antigen mit Wasser oder Milch u. dgl. verabreichen. Zu berücksichtigen ist bei diesem Verfahren, daß die Dosierung oft eine sehr ungleiche wird, die Tiere fressen das Futter auch in verschieden langer Zeit auf: das eine Tier bringt durch rasches Fressen eine große Masse Antigen fast auf einmal in den Intestinaltraktus, bei anderen vollzieht sich die Einfuhr allmählich. Verabreicht man lebendes Antigen, so wird durch nachträgliche Vermehrung des Antigens oder andererseits durch Schädigung (beim Trocknen usf.) die Wirkungsweise beeinflußt werden.

Es würden sich daher abgetötetes Antigen oder ein nicht zu labiles Toxin oder nach P. Ehrlichs Dafürhalten bakterielle Extrakte am ehesten noch für diesen Immunisierungsmodus eignen.

a) Immunisierung durch Verfütterung von abgetöteten und lebenden Bakterien.

Löffler[3] nahm bei der Immunisierung von Feldmäusen gegen Mäusetyphus 1 Tag alte Agarplattenkulturen (9 cm Durchmesser), die mit 5 ccm Kochsalzlösung abgeschwemmt und danach 1 Stunde bei 70° gehalten wurden: hiervon wurden je 2,5 ccm auf 4 kleine Brotwürfel verteilt und an eine Maus verfüttert, die Maus erhielt also eine halbe Plattenkultur, die Fütterung erfolgte 11 mal in 15 Tagen.

Einer ähnlichen Methode folgten K. Wolf und Yoshida bei weißen Mäusen. Da diese Autoren bei der Verfütterung von abgetöteten Mäusetyphusbacillen Verluste durch diese Vorbehandlung hatten,

so bevorzugten sie die Verfütterung von lebenden mäuseavirulenten Paratyphusbacillen. Die Vorbehandlung mußte ebenso wie bei Löffler lange ausgedehnt werden, wenn die Mäuse gegen die Infektion per os geschützt sein sollten. Die einzelnen Paratyphusstämme verhielten sich verschieden. Ein gewisser Schutz trat nach Verfütterung von Paratyphus B-Bacillen auch gegen die subkutane Infektion mit Mäusetyphusbacillen ein. Agglutinine traten im Serum nicht auf.

Bei Meerschweinchen erzielte Shiga[3] durch Verfütterung abgetöteter Paratyphuskulturen meist Immunität gegen die 10—14 Tage später erfolgte Injektion der lebenden Kultur in den Dünndarm.

Die stomachale Einführung durch Hitze abgetöteter Paratyphuskulturen soll nach Siciliano bei Kaninchen und Meerschweinchen wohl zur Bildung bakteriolytischer Antikörper, nicht aber von Agglutininen führen. Wurden den so vorbehandelten Tieren nunmehr lebende Bacillen per os verabreicht, so zeigten die Meerschweinchen keine Agglutinine, wohl aber die Kaninchen.

Kutscher & Meinicke konnten bei Meerschweinchen, die eintägige lebende Bouillonkultur von Paratyphus- und Mäusetyphusbacillen mit Mohrrübenschnitzel verfüttert erhielten, nach 4 Wochen Immunität gegen intraperitoneale Injektion großer Dosen (1000- bis 10000-fach tödliche Menge) dieser Kulturen nachweisen. Die Verfütterung der lebenden Mäusetyphusbacillen führte in einigen Fällen zum Tode, während die Vorbehandlung mit Paratyphusbacillen gut vertragen wurde; die Vorbehandlung von Meerschweinchen mit abgetöteten Paratyphusbacillen auf gleichem Wege führte nicht zur Immunität.

Brückner gelang es, Mäuse durch 9 Tage lange Fütterung mit lebenden Paratyphusbacillen (Typus B, Virulenz subkutan $^1/_{10}$ Oese für Mäuse, bei der stomachalen Fütterung von 16 Mäusen ging eine an Infektion zugrunde) gegen die nachfolgende subkutane Impfung mit der Dos. min. letalis zu immunisieren, von 14 per os vorbehandelten Mäusen erlag nur eine der subkutanen Infektion.

Brückner bediente sich zum Füttern kleiner Brotwürfel, auf 4 Mäuse verabreichte er täglich eine ganze 1-tägige Agarkultur, die in 2, 3 oder 4 ccm Kochsalzlösung, bei einer anderen Mäuseserie in keimfreiem Filtrat (Chamberland) von eintägigen Bouillonkulturen suspendiert waren. Ein Unterschied in der Wirkung dieser verschiedenen Suspensionen war nicht zu erkennen.

Bei Brückner auch Literatur über frühere Versuche der oralen Immunisierung.

Bei Verfütterung von Typhusbacillen (Bouillonkulturen) an Meerschweinchen beobachteten Kutscher & Meinicke keine Immunität (gegen intraperitoneale Infektion).

Typhusimmunität konnten Courmont & Rochaix bei Ziegen und Kaninchen durch stomachale (mittels Schlundsonde) Einfuhr von 8 Tage alten, bei 53° abgetöteten Kulturen (polyvalent) erreichen. Noch wirksamer war der rectale Modus (s. u.).

Hida & Toyoda konnten bei Meerschweinchen nach Verfütterung bei 60° abgetöteter Cholera-, Typhus- und Dysenteriebacillen Immunität nicht nachweisen.

Shiga hingegen will bei Kaninchen durch Verfütterung abgetöteter Dysenteriebacillen eine gewisse Widerstandsfähigkeit

gegen intravenöse Injektion kleiner Mengen Dysenterietoxin beobachtet haben und hat diese Methode auch beim Menschen angewandt.

Sowohl mit abgetöteten als lebenden Dysenteriebacillen (Shiga-Kruse) konnte Chvostek in einigen Fällen Kaninchen durch Verfütterung von Agarkulturen immunisieren (2-tägige Kultur, aufgeschwemmt in 50 ccm NaCl-Lösung, davon 20 ccm pro Fütterung alle 8 Tage), die subkutane oder intraperitoneale Methode fand er aber sicherer, manche Kaninchen waren per os überhaupt nicht zu immunisieren. Der Antitoxingehalt des Serums der gefütterten Tiere verhielt sich schwankend, Agglutinine fehlten.

Ueber die Immunisierung von Mäusen gegen Dysenteriebacillen per os (5 mg trockene Bacillen alle 2—3 Tage, Schutz gegen subkutane Injektion tödlicher Dosen von Dysenteriebacillen) vgl. Dopter[1].

Lüdke[6] fütterte Kaninchen mit Salatblättern, die mit lebenden Shiga-Bouillonkulturen getränkt waren, 5 Tage lang; eine Steigerung des Agglutinationstiters war kaum nachzuweisen.

Zeitlins Selbstversuch der Immunisierung per os durch Dysenteriebacillen (eintägig, bei 60° abgetötet, die Dosen stiegen von 0,2 auf 10 mg, Pausen von 3—11 Tagen, sechsmalige Aufnahme mit Wasser) hatte keine Erhöhung des Agglutinations- und bakteriziden Titers zur Folge.

Nach Fornario sind Meerschweinchen gegen Pest durch stomachale Einverleibung der 90 Minuten bei 53° gehaltenen und in Zwischenräumen von 10—14 Tagen verabreichten Kultur zu immunisieren (gegenüber subkutaner Injektion), die 60°-Bakterien waren unbrauchbar.

Ueber Diphtherieimmunisierung auf stomachalem Wege s. Breton & Petit. (Meerschweinchen, Abschwächung der Diphtheriebacillen bei 48°.)

Daß Kälber nach Verfütterung von menschlichen Tuberkelbacillen eine Widerstandsfähigkeit gegen Rindertuberkelbacillen akquirieren, ist von v. Behring festgestellt, Calmette[5, 6], Calmette & Guérin[1, 2] suchten dasselbe durch Verfütterung virulenter Rindertuberkelbacillen zu erreichen.

Von Interesse ist, daß nach Vallées Versuchen junge Kälber bei der Immunisierung per os (0,1—0,5 g lebender, aber avirulenter Bacillen eines von Pferdetuberkulose isolierten Stammes, s. S. 24) gegen die natürliche und experimentelle Infektion vom Intestinaltraktus aus sich refraktär verhielten (nicht gegen intravenöse Infektion). Siehe ferner Lignières (bei Saugkälbern dreimalige — Pausen von 2 Monaten — intrastomachale Einfuhr von Vogeltuberkelbacillen, die durch 18 Monate langen Aufenthalt im Peritoneum des Rindes innerhalb von Kollodiumsäckchen präpariert waren).

Literatur über Immunisierung durch Verfütterung von Lymphe siehe Paschen, Kraus-Levaditi, Ergänzungsband I, S. 493.

Ueber Präzipitinbildung nach stomachaler Antigenzufuhr siehe Kraus, dieser Band.

b) Immunisierung durch Verfütterung von Giften.

Die Ehrlichsche Kakesmethode. (P. Ehrlich[2].)

Diese Methode wandte Ehrlich an, um Mäuse ricin- und abrinfest zu machen.

Albert-Kakes (von THIELE, Gewicht 6,75 g) wurden fein verrieben und mit dem gerade nötigen abgemessenen Minimum wässeriger Ricinlösung (3,2 bis 3,5 ccm pro Kake) zu einem steifen Teig verrührt, der gerollt und in kleine Würfel geschnitten wurde, die auf Drahtgittern rasch austrockneten. Die Verabreichung der abgewogenen Würfel ermöglicht eine ganz gleichmäßige Zufuhr der toxischen Substanz.

Immunisierung von Meerschweinchen durch Verfütterung von Diphtherietoxin, vgl. F. CHVOSTEK (nur eins von 10 vorbehandelten Tieren vertrug die subkutane Vergiftung mit der knapp zweifach tödlichen Dosis.)

In anderen Fällen wird man sich unabhängig von der Freßlust der Tiere machen und das Antigen künstlich einführen, das geschieht durch Einverleibung

in den Mund,
in den Magen,
in das Rectum.

Die Technik schließt sich in allen diesen Fällen an die Infektionsversuche an.

c) Das Einträufeln in den Mund nahm z. B. LÖFFLER an den durch Verfütterung von abgetöteten Mäusetyphusbacillen vorbehandelten Mäusen vor, indem er ihnen in weiteren 14 Tagen 6mal je den Bodensatz von Aufschwemmungen einer ganzen Plattenkultur, die bei 70° abgetötet waren, einträufelte. Eine Reihe von Tieren erwies sich dann als immun gegen die Infektion per os.

d) Die Einfuhr direkt in den Magen geschieht durch Schlundsonden (s. I. Bd., S. 501).

Für die intrastomachale Immunisierung von Mäusen mit exakt abgemessenem Antigenquantum hat L. H. MARKS einen $6^1/_2$ cm langen, ganz feinen Seidenkatheter benutzt, der an dem einen Ende einen Kanülenansatz für das untere Ende der Pravazspritze trägt. Das freie Ende dieser Magensonde ist zur Vermeidung von Verletzungen abgerundet. Zum Oeffnen und Fixieren des Mauls dient eine Pinzette. Die Katheter (F. & M. LAUTENSCHLÄGER) sind lange gebrauchsfähig und werden nach Benutzung mit Alkohol durchgespült. Das Injektionsvolumen kann bis zu 2 ccm Flüssigkeit betragen. Nach H. LIPPMANN empfiehlt es sich, das Katheterspitzenstück vor der Einführung jedesmal einen Moment über die Bunsenflamme zu halten; dadurch wird es weich und vermag nicht mehr die Schleimhaut zu verletzen.

Nachdem von TCHITCHKINE stomachale Immunisierung gegen das Botulinusgift bei Kaninchen mit Erfolg eingeleitet worden ist, hat H. LIPPMANN eine größere Zahl von Mäusen auf dem gleichen Wege gegen die vierfach vom Intestinaltraktus aus tödliche Dosis schützen können:

LIPPMANN brachte 77 Tieren zur Vorbehandlung mittels der MARKSschen Schlundsonde von einem Gift, das subkutan in der Dosis von 0,000025, stomachal von 0,04 Mäuse tötete, im Zwischenraum von 5—6 Tagen 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,075; 0,09; 0,1; 0,11; 0,12, 0,13, 0,14, 0,15, 0,16 g Toxin bei, 31 blieben am Leben. Die Immunität war keine absolute; nach Verabreichung von 0,5 Toxin verendeten die Tiere, auch war lediglich der Intestinaltraktus giftunempfindlich geworden, denn bei subkutaner Injektion von 0,000025 Toxin gingen die stomachal immunen Tiere zugrunde (in 2 Tagen).

FRIEDBERGER[3] konnte bei 2 Kaninchen nach Einführung (Schlundsonde) von abgetöteten (60°) Choleraagarkulturen (5; bei dem 2. Tier 5, später 12 Kulturen) nur eine sehr geringe Erhöhung des Agglutinationstiters, hingegen eine solche des bakteriziden Wertes auf 0,0075 und 0,006 (gegen 0,3 normal) beobachten.

Im übrigen ist bei Mitteilungen über Immunität nach Einführen von Antigen mittels der Schlundsonde Skepsis am Platze: Die Vermeidung von Schleimhautläsion hierbei ist ganz außerordentlich schwer (vgl. auch CHVOSTEKS Versuche).

Man hat auch versucht, die durch den Magensaft erfolgende Antigenzerstörung zu umgehen: McCLINTOCK & KING führten in den leeren Magen doppeltkohlensaures Natron ein, um $1/2$ Stunde später Diphtherie-, Tetanus- oder Schlangengift zu verabreichen (bei Meerschweinchen, Kaninchen). Diese Autoren bedienten sich auch des Opiums und des in Chloroform gelösten Salols.

Zu der stomachalen bez. intestinalen Einverleibung gehört auch die Verabreichung von Antigen, das in Kapseln, Pillen etc. eingeschlossen ist.

Solche Versuche sind beschrieben bei HIDA & TOYODA (Behandlung von Cholera-, Typhus- und Dysenteriebacillen mit Pepsin- und Trypsinlösungen, Filtration durch Chamberland, Einschließen des Filtrats in keratinierte Kapseln, die Meerschweinchen und Kaninchen per os verabreicht wurden. Das Serum der Tiere agglutinierte danach und wirkte bakteriolytisch); ferner bei ISHIGAMI (Tuberculo-Toxoidin), A. MÖLLER[2] (Geloduratkapseln mit einem Gemisch von Bacillenemulsion, Timotheïn und Ameisensäure), KRAUSE (Phthysoremidkapseln, enthaltend KOCHS Bacillenemulsion). Vgl. hierzu F. KÖHLER, sowie vor allem MÖLLERS und HEINEMANN, die die Geloduratkapseln von POHL-SCHÖNBAUM, die Tubertoxylkapseln der Kaiser-Friedrichapotheke, Berlin, die Phthysoremidkapseln der Germania-Kapselfabrik, Berlin, die Capsulae gelatinosae stabigel. (mit Alttuberkulin gefüllt) und Kapseln mit zermahlenen Tuberkelbacillen an Patienten verabreichten und in keinem Falle eine Tuberkulinimmunität nachweisen konnten, sie verwerfen diese Tuberkulinanwendung (Abschwächung der spezifischen Substanz, durch Pepsin und Trypsin, mangelhafte Resorption, unsichere Dosierung).

Man hat auch Rauschbrandimpfstoffe (durch Erwärmen abgeschwächtes Virus im Muskelfleisch) in Pillenform hergestellt, die subkutan verimpft werden. Nach HOLMES haben diese gegenüber dem gepulverten Impfstoff den Vorteil, daß sie nicht so rasch der Auflösung erliegen, das Virus ist länger vor Phagocytose geschützt und kann kontinuierlicher wirken. Die gleiche Absicht verfolgt die subkutane (Schwanzhaut-)Impfung von mit Impfstoff imprägnierten Fäden (Methode THOMAS bei Rauschbrand), oder von Watte (POELS bei Rauschbrand).

e) Per clysma (lange Kanüle) immunisierten COURMONT & ROCHAIX Ziegen, Kaninchen und Menschen gegen Typhus: sie verwandten 8 Tage alte, bei 53° abgetötete Kulturen (polyvalent): Ziegen erhielten 250—300 ccm, Kaninchen 100 ccm jedesmal, im ganzen drei Einläufe mit mehrtägigen Pausen. Die Tiere waren immun gegen intravenöse Injektion von Typhustoxin, das Kontrolltiere in wenigen Stunden tötete. Beim Menschen nahmen sie ebenfalls 3 Einläufe in 5-tägigen Zwischenräumen vor, pro Einlauf 100 ccm abgetöteter Kultur, die mit Opium versetzt war. Schon nach einem Einlauf beim Menschen war 10 Tage später der Agglutinations- und bakterizide Titer gestiegen.

Ueber rectale Immunisierung gegen Pest bei Meerschweinchen berichtet FORNARIO, er verabreichte 1-tägige Kultur, die $1^1/_2$ Stunde bei 53° gehalten worden war, in Zwischenräumen von 10—14 Tagen, die Tiere erhielten schließlich virulente Bacillen. Die Kontrollinfektion geschah subkutan. Schon einmalige rectale Zufuhr führte zur Bildung komplementbindender und opsonischer Antikörper. — Rectale Injektion von lebenden oder abgetöteten Typhus- oder Mäusetyphusbacillen rief nach C. STERNBERG Agglutininbildung bei Kaninchen hervor. Nach 4-maliger in Zwischenräumen von 8 Tagen vorgenommener rectaler

Zufuhr bei 100° abgeschwächter Diphtheriebacillen zeigten Meerschweinchen in den Versuchen von BRETON & PETIT geringe Mengen von Antikörpern im Serum.

ISHIZAKA konnte bei Kaninchen durch Einführung von Habuschlangengift per anum ein Antitoxin gewinnen, per os gelang das gleiche nicht.

Durch rectale Einverleibung von Diphtherietoxin will PIWOWAROW Meerschweinchen gegen die subkutane tödliche Toxindosis geschützt haben, hingegen konnte C. STERNBERG bei Kaninchen durch rectale Injektion von Diphtherietoxin keine Antikörperbildung hervorrufen, ebensowenig Präzipitine nach rectaler Einfuhr von Pferde- oder Rindereiweiß, geringe Präzipitinbildung soll aber beim Menschen nach rectaler Pferdeeiweißeinfuhr erfolgen.

Hämolysinbildung nach rectaler Einverleibung von Blut hat D. JACOBSON beobachtet (Kaninchen erhielten 5mal in Zwischenräumen von 2 Tagen je 5 ccm Hammelblut, 17 Tage nach dem letzten Klystier Blutentnahme), bei Meerschweinchen gelang das aber PANISSET nicht.

Die rectale Applikation ist auch gewählt worden, um giftig wirkende Antigene abzuschwächen: so hat HILDEBRANDT das Emulsin zur Immunisierung von Kaninchen per rectum eingeführt.

Andere Male ist beobachtet worden, daß die Impfschädigung bei rectaler Einverleibung (von erhitzten Diphtheriebacillen, BRETON & PETIT) stärker ist als bei stomachaler Einverleibung, hier kommt ja die Wirkung des Magensaftes in erster Linie in Frage.

Wie bei der Infizierung per os, so hat man sich auch bei der Immunisierung per rectum des Kunstgriffs bedient, durch Verabreichung von Opium ein längeres Verweilen des Antigens im Darmtraktus zu erzielen. So gelang es COURMONT, Kaninchen gegen Typhus und Pyocyaneus zu immunisieren, wenn er die bei 60° abgetöteten Bacillen mit Opium in den Darm einführte (bei Pyocyaneus dreimalige Einführung von 100 ccm mittels 40 cm langer Kanüle per rectum).

Negativ waren die auf ähnliche Weise angestellten Versuche desselben Autors, Meerschweinchen gegen Tuberkulose zu schützen (Perlsuchtbacillen wurden während 6 Stunden bei 65° abgetötet, 15 ccm Impfstoff per clysma mit Opium 6mal in 4—5-tägigen Pausen. 25 Tage später Verabreichung lebender boviner Bacillen (subkutan oder per os).

Es ist noch zu erwähnen, daß in manchen Fällen die intestinale Immunisierung mit anderen Schutzimpfungsmethoden kombiniert worden ist, schon EHRLICH schloß an die orale Verabreichung von Abrin und Ricin die subkutane an, die eben ungleich wirksamer ist.

6. Einführung von Kollodium- und Schilfsäckchen.

Eine eigenartige Methode der aktiven Immunisierung ist die mittels des in Schilf- oder Kollodiumsäckchen eingeschlossenen Virus.

Diese Methode geht zurück auf die im PASTEURschen Institut vielfach angewandten Kollodiumsäckchen von E. ROUX. Sie wurden namentlich zur Virulenzerhöhung, ferner zur Gewinnung von Bakterientoxinen, zu Phagocytoseversuchen usf. verwendet (METSCHNIKOFF-ROUX-TAURELLI-SALIMBENI).

Die Methode der Herstellung von Kollodiumsäckchen ist beschrieben bei E. ROUX, H. CONRADI[2], ferner E. P. PICK[1]. Praktische

Versuche u. a. bei RODET & GUECHOFF, ferner CRENDIROPOULO & RUFFER.

Für die aktive Immunisierung mittels in Kollodiumsäckchen eingeschlossener Antigene ist die Beobachtung von MILLER beachtenswert, daß Toxin (Diphtherie) im Kollodiumsack in der Bauchhöhle (Meerschweinchen) eine höhere Giftigkeit erlangen kann.

Für die Toxindurchlässigkeit kommt in Betracht, ob es sich um konzentriertes oder verdünntes Gift handelt, verdünntes Diphtheriegift wird zurückgehalten, unverdünntes nicht (STEINHARDT).

Von E. METSCHNIKOFF sind Schilfsäckchen an Stelle der Kollodiumsäckchen verwendet worden. Herstellung ist geschildert bei PODBELSKY, ferner bei E. P. PICK[1].

Diese Schilfsäckchen vermögen Bakterien zurückzuhalten, sie lassen nach METSCHNIKOFF Salze, Albumosen, Peptone und Alkaloide durchtreten. Zu Immunisierungszwecken verwandten sie zunächst DE WAELE & SUGG: sie füllten Schilfsäckchen mit Pockenvaccine, nähten diese in Hauttaschen von Kälbern ein und entfernten sie 3—7 Tage später. Die am 8. bis 10. Tage ausgeführte Nachimpfung ergab ein negatives Resultat.

Kurze Zeit darauf publizierte HEYMANS seine Methode der Tuberkuloseimpfung.

Er hatte zunächst Meerschweinchen und Kaninchen mit lebenden Tuberkelbacillen versehene Kollodiumsäckchen eingeführt und bei einzelnen dieser Tiere eine Verzögerung der tödlichen Infektion bei Nachimpfung beobachtet, vor allem aber konstatierte er bei tuberkulösen Rindern unter der Schilfsäckchenbehandlung Rückbildungserscheinungen, die ihn veranlaßten, das Verfahren weiter auszubauen und auch zur praktischen Schutz- und Heilimpfung anzuwenden.

Eine eingehende Schilderung des Impfverfahrens gibt EBER[1]. Danach werden Schilfsäckchen, die mit virulenten Rindertuberkelbacillen in trockener Form versehen und vor Zertrümmerung durch Gelatinekapseln geschützt sind — diese haben eine Länge von 3 cm, eine Dicke von $^3/_4$ cm — mittels eines Troikarts an den Seitenteilen der Brustwand des Rindes subkutan eingeführt. Die Impfstelle wird im Umfange eines Handtellers geschoren und mit Alkohol desinfiziert. Man faßt eine Hautfalte, die parallel zur Körperachse verläuft, und durchschneidet sie quer mit dem Bistouri, so daß eine 2—3 cm lange Wunde entsteht. Durch diese wird der Troikart unter die Haut nach unten eingestoßen und die Gelatinekapsel nach Entfernung des Stiletts mit Hilfe eines Glasstabes in die Subcutis gebracht. Die Hautwunde wird mittels Metallagraffe geschlossen, diese fällt nach einigen Tagen von selbst ab. Die Impfung erfordert nur wenig mehr als 1 Minute Zeit. Die Gelatinekapseln sind wenige Stunden nach Einführung resorbiert. Eine Reaktion an der Impfstelle erfolgt nicht, ebensowenig Temperaturerhöhung. Nur in etwa 10 Proz. entsteht eine leichte, belanglose Eiterung an der Impfstelle. Das eingekapselte Schilfsäckchen ist noch nach Monaten unter der Haut zu fühlen. 14—40 Tage nach der Impfung reagiert das Tier auf Tuberkulin wie ein tuberkulöses, nach 4—6 Monaten verschwindet diese Reaktionsfähigkeit, die übrigens, wie HEYMANS feststellte, niemals auf tuberkulöse Herde zurückzuführen war, vielmehr hält H. dafür, daß die von den Tuberkelbacillen gebildeten Stoffwechselprodukte durch die Schilfhaut diffundieren und sich dem Rindsorganismus mitteilen.

Die Impfung ist alle Jahre zu wiederholen. Im Gegensatz zu der Impfung mit Bovovaccin und Tauruman können der Impfung auch ältere Tiere unterworfen werden. EBER fand bei mikroskopischen Untersuchungen der eingekapselten Schilfsäckchen die Bacillen stets nur im Innern des Säckchens, niemals außerhalb, auch nicht in benachbarten Lymphdrüsen.

Die Versuche an 18 Rindern, die vor 7, $7^1/_2$, 8, $14^1/_2$ und $16^1/_2$ Monaten immunisiert waren, verglichen mit Versuchen an 13 Kontrolltieren, lassen einen gewissen Grad von Immunität gegenüber der subkutanen oder intestinalen künstlichen Infektion erkennen. Was den Schutz gegenüber der natürlichen Infektion

betrifft, so hält Eber das Heymanssche Verfahren den bisherigen Schutzimpfverfahren, die sich der subkutanen oder intravenösen Einverleibung lebender Tuberkelbacillen der verschiedensten Herkunft bedienen, mindestens für ebenbürtig. Als einen besonderen Vorzug des Verfahrens hebt Eber die Anwendbarkeit bei reagierenden und nicht reagierenden Tieren, sowie die Möglichkeit beliebiger Wiederholung hervor.

Die Heymanssche Methode ahmt offenbar die Verhältnisse bei der natürlichen Infektion weitgehend nach, es findet eine dieser entsprechende Zufuhr von Tuberkulin zum Organismus statt, es kommen die eingreifenden Erschütterungen, wie sie bei der künstlichen Immunisierung sonst gegeben sind, in Wegfall.

Eingehende Untersuchungen über die antigenetische Fähigkeit der die Schilfsäckchen passierenden Stoffe hat dann H. de Waele angestellt. Von Wichtigkeit ist dessen Feststellung, daß die in vitro und in vivo die Schilfhaut durchdringenden Stoffe nicht in jedem Falle identisch sind, es scheint zwar, daß in vivo innerhalb des Schilfsäckchens eine stärkere Vermehrung, wenigstens zeitweise, auftritt und dementsprechend auch ein reichlicherer Zerfall von Bakterienzellen stattfindet, aber es bewirken wohl auch noch andere Faktoren, daß von den im Körper gehaltenen Schilfsäckchen starke Intoxikationen ausgehen, während die in vitro gewonnenen Dialysate sich ungiftig erweisen (s. unten).

De Waele führte die sehr kleinen, nicht mehr wie 2 Tropfen Kultur fassenden Säckchen subkutan bei Meerschweinchen und Kaninchen ein, er benutzte Cholera-, Diphtherie-, Milzbrand-, Typhus-, Pyocyaneus- und Tuberkelbacillen (Typ. hum.). De Waele konnte bei den vorbehandelten Tieren im allgemeinen eine gewisse Immunität beobachten, die in vielen Fällen allerdings nur schwach ausgeprägt war, nach Entfernung der Säckchen aber anzusteigen pflegt. Die Diphtherietiere erwarben keine Toxinimmunität. Wurden an Stelle der menschlichen Tuberkelbacillen Kaltblütertuberkelbacillen in die Säckchen gegeben, so zeigte ein Kaninchen Resistenz gegen Menschentuberkulose, die übergroße Mehrzahl der Meerschweinchen und Kaninchen starben binnen 2—21 Tagen infolge der Schilfsäckcheneinfuhr, obwohl in vitro die Kulturen keine dialysablen giftigen Produkte bildeten. De Waele ist geneigt, einen dem Bailschen Aggressin ähnlichen giftigen, erst im Tierkörper entstehenden Stoff anzunehmen. Derartige Intoxikationen wurden namentlich auch bei mit Pyocyaneusschilfsäckchen versehenen Tieren beobachtet.

Versuche in vitro, die de Waele anstellte, ergaben, daß, wie erwähnt, das Diphtherietoxin sowie das Agglutinogen und Präzipitinogen des Typhusbacillus nicht dialysierten, hingegen das Hämolysin des Pyocyaneus und die Pyocyanase. Die in vitro erhaltenen dialysierenden Stoffe vermochten kurze Zeit nach der einmaligen Injektion eine gewisse Schutzwirkung, bei mehrmaliger Einfuhr eine sich in Temperatursteigerung äußernde Ueberempfindlichkeit hervorzurufen. Die Anaphylaxie war auch bei den Säckchen tragenden Tieren nachzuweisen.

Die gleichen Eigenschaften wie die Schilfsäckchen zeigten auch die Cellulosesäckchen (Lieferant Leune, Paris). (Hier sei erwähnt, daß sich tierische Membranen in mancher Hinsicht anders verhalten wie die Cellulose- oder Schilfhäute. Nach van de Velde diffundieren Invertin, Maltase, Labferment, Zymase usf. nicht durch Cellulosehaut, wohl aber sind die tierischen Häute enzymdurchlässig.)

II. Dosierung des Antigens.

Die Frage, welche Antigenmengen zur Erzielung aktiver Immunität zu verabreichen sind, kann immer nur mit Hinblick auf die übrigen Versuchsbedingungen beantwortet werden.

Die Antigendosierung richtet sich nach der Art und Beschaffenheit des Antigens, nach der Applikationsweise, nach Tierart, Individualität, weiterhin danach, ob es sich um Erstinjektion oder Reinjektion oder Organismen mit natürlich erworbener Immunität handelt, ferner nach dem Impfturnus und vor allem nach dem, was man mit der Antigenzufuhr bezweckt.

Da jeder einzelne dieser Faktoren nichts Gleichartiges zu sein braucht, so ergeben sich die zahlreichsten Variationen, selbst wenn man nur eine Tierart und ein Antigen berücksichtigt.

Wie sich mehr und mehr herausgestellt hat, steht die Individualität des Versuchsorganismus dermaßen im Vordergrund, daß auch hier mit Einzelbeobachtungen und kleinen Versuchsreihen sehr wenig anzufangen ist. Rechnet man hierzu, daß früher auch der Einfluß der Nebenfaktoren, daß die Qualität des Impfstoffs, die Rassen- und Kulturunterschiede der einen Bakterienart usf. nicht genügend berücksichtigt wurden, so stößt die Ermittelung allgemeingültiger Sätze auf große Schwierigkeiten.

Es stehen sich Beobachtungen gegenüber, nach denen nur stärkste Erschütterungen des Organismus durch Antigendosen, die der tödlichen Dosis nahekommen, zur Immunität führten (Streptokokken) und nach denen in einem anderen Falle eine hochgradige Antikörperentwickelung auf die Zufuhr minimaler Impfstoffmengen hin eintrat, die ein vermehrungsfähiges Agens nicht enthielten und keine wahrnehmbare Alteration des Impflings zur Folge hatten (Typhus, Cholera).

Unter dem Einfluß solcher auffallenden Tatsachen ist man geneigt gewesen, diese Methoden zu verallgemeinern. Das mußte zu Mißerfolgen führen, denn die Antigene waren in den angeführten Beispielen unter sich gar nicht vergleichbar, vor allem aber ist zu fragen: was bezwecken wir mit der Immunisierung und worin besteht die Kontrolle des Immunisierungseffektes?

Will man, wie bei der erwähnten Streptokokkenimmunisierung ein Serum erhalten, das die ganze Summe der zur Abwehr einer Streptokokkeninfektion nötigen Antikörper enthält, so ist das ganz etwas anderes, als wenn man nach Verabreichung kleinster Dosen abgetöteter Choleravibrionen dem Versuchstier nur den einseitigen Maßstab der Prüfung auf bakteriolytische Antikörper oder Agglutinine anlegt, unbekümmert darum, ob nun auch eine Immunität gegen tödliche auf natürlichem oder unnatürlichem Wege beigebrachte Virusmengen damit erzielt ist.

Im allgemeinen wird man sich bei der Erstinjektion von Bakterien oder Toxinen hüten, den Extremen zu nahe zu kommen: man wird die Mitte halten zwischen den Dosen, die lebenbedrohende Erscheinungen veranlassen, und solchen, die einen Reiz nicht ausüben. Man begnügt sich damit, die tödliche Dosis für das Antigen zu ermitteln oder verwendet empirische Daten. An letztere sich zu halten, ist für wissenschaftliche Versuche nicht angängig: man muß vielmehr pro Körpergewicht Tier die dos. min. letalis für den zu wählen-

den Applikationsmodus bestimmen, auch dann, wenn es sich um ein nicht vermehrungsfähiges Antigen handelt.

In jedem Falle aber ist damit zu rechnen, daß diese gerade tödliche Dosis selbst bei einem sicher konstanten Antigen keine absolut feststehende Zahl ist, sondern nach oben und unten hin wegen der Individualität des Impflings eine Zahlenreihe umfaßt.

Man pflegt auch im Anfang Dosen zu vermeiden, die eine schwer krankmachende Wirkung äußern, man muß dann bis zur Reinjektion zu lange warten, die Tiere können leicht einen bleibenden Schaden davon tragen und gegenüber interkurrenten Erkrankungen widerstandsunfähig sein.

Darf sich das Immunisierungsverfahren über einen längeren Zeitraum erstrecken, so wird es immer gut sein, zur Herbeiführung der Grundimmunität den kleinen Dosen den Vorzug zu geben. Zumal wenn wir ein reproduktionsfähiges Antigen verabreichen, wird diese Vorsicht geboten sein: Hier fehlen systematische Versuche, die für unsere Betrachtung verwertbaren Erfahrungen betreffen fast ausschließlich die Einfuhr des nicht vermehrungsfähigen Antigens.

Besonders sinnfällig ist der Einfluß der Quantität des Antigens auf den Immunisierungseffekt in den Versuchen R. Pfeiffers, Affen gegen Pest zu immunisieren: es widerstanden die Makaken, welche eine ganze Pestagarkultur (2 Tage alt, sterilisiert durch Erwärmen auf 60° 1 Stunde) subkutan erhalten hatten, der subkutanen Infektion mit 1 Oese lebender Kultur; wurde weniger Impfstoff verabreicht, so gingen die Tiere nach der Kontrollimpfung zugrunde (siehe Bericht der Deutschen Pestkommission).

Diese Beobachtungen gaben R. Pfeiffer den Anlaß, weitere Untersuchungen in der gleichen Richtung von seinen Schülern ausführen zu lassen.

Zunächst hat Ascher für die subkutane Impfung von Kaninchen (Gewicht 1070—1640 g) mit abgetöteten (60°) 24-stündigen Cholerakulturen (Dos. let. $^1/_{10}$ Oese Meerschweinchen, 200 g, 20 Stunden) ermittelt, daß nur größere Differenzen der Injektionsdosis, die er zwischen $^1/_{10}$ Oese und 5 Agarkulturen schwanken ließ, Ausschläge geben, 3 und 1, $^1/_2$ und $^1/_4$ Agarröhrchen, $^1/_5$ und $^1/_{10}$ Oese verhielten sich bei Prüfung des bakteriziden Wertes des Serums (8 Tage nach einmaliger Einspritzung, subkutan) gleich. Die Tiere mit 3 und 1 Röhrchen wiesen einen bakteriziden Titer von 0,5, die mit 1 Oese von 3—5 mg, die mit $^1/_5$ und $^1/_{10}$ Oese von 100 mg auf. Der Agglutinationstiter nach 1 Oese und mehr betrug 1:60—200, der Titer nach $^1/_5$ und $^1/_{10}$ Oese 1:10—20. — Als dann durch die S. 131 erwähnten Versuche von Mertens festgestellt war, daß bei Kaninchen nach einmaliger intravenöser Einfuhr abgetöteter Choleravibrionen schon ein Serum vom bakteriziden Titer 0,0004 zu erhalten war, hat Friedberger[1] die Frage weiter bearbeitet.

1600 g schwere Kaninchen erhielten intravenös von Kochsalzsuspensionen 2 Stunden bei 60° abgetöteter 14—18-stündiger Choleraagarkulturen $^1/_{20}$—$^1/_{5000}$ Oese. 8 Tage nach der Impfung Blutentnahme. Die Prüfung des bakteriziden Titers ergab folgende Werte:

Injektionsdosis	Titer nach der Injektion	Titer vor der Injektion
$^1/_{20}$ Oese	0,0005—0,0002	0,2 schützt nicht
$^1/_{100}$ „	0,0005—0,0003	0,2—0,1
$^1/_{500}$ „	0,005 —0,001	0,2 schützt nicht
$^1/_{1000}$ „	0,005 —0,001	0,2 „ „
$^1/_{1000}$ „	0,003 —0,001	0,2 „ „
$^1/_{5000}$ „	0,1 —0,05	0,2—0,1
$^1/_{5000}$ „	0,1 —0,05	0,2 schützt nicht

In späteren von Friedberger mit Moreschi[1] ausgeführten Versuchen an Kaninchen (Gewicht 1500—2500 g), die $^1/_{100}$ Oese in

gleicher Weise abgetöteter Choleravibrionen intravenös erhielten, ergab sich in den meisten Fällen ein bakterizider Titer von 0,0001 bis 0,0005, nur in einem Falle ein solcher von 0,001—0,005; der Agglutinationstiter schwankte am 8. Tage nach dieser einmaligen Impfung zwischen 1:10 und 640. Die bakteriziden Antikörper konnten noch nach 4—5 Monaten in ansehnlicher Menge bei diesen Tieren nachgewiesen werden.

Auch bei Typhus konnten FRIEDBERGER & MORESCHI ähnlich wie bei Cholera durch einmalige intravenöse Verimpfung sehr kleiner Dosen ($^1/_{100}$ Oese) an Kaninchen einen sehr starken Anstieg des bakteriziden Titers hervorrufen, allerdings trat das bei Typhus nicht mit derselben Regelmäßigkeit wie bei Cholera ein entsprechend der Beobachtung, daß manche Typhusstämme als Antigene überhaupt wenig brauchbar sind.

COLE konnte am Kaninchen nach intravenöser Zufuhr von $^1/_{200}$ Oese lebender Typhuskultur spezifische Antikörper nachweisen (zitiert bei WASSERMANN[2]), nicht nach $^1/_{400}$ Oese, hingegen stieg bei einem schon (mit $^1/_4$ Oese) vorbehandelten Tier nach dieser sonst unwirksamen Dosis von $^1/_{400}$ Oese der Agglutinationstiter stark an.

KUTSCHER & MEINICKE haben zur raschen Erzielung hochwertig agglutinierender Kaninchensera bei Immunisierung mit abgetöteten (60° 1 Stunde) Typhus-, Mäusetyphus- und Paratyphusbacillen die intravenöse Zufuhr sehr kleiner Dosen nicht bewährt gefunden, große Dosen — begonnen mit 1 Oese — leisteten ganz erheblich Besseres, sie erklären diese von den vorerwähnten Versuchen abweichenden Ergebnisse mit der Benutzung einer anderen Kaninchenrasse.

Ueber Versuche am Menschen mit minimalen Typhusdosen berichten ebenfalls FRIEDBERGER & MORESCHI[2]: selbst die Menge von $^1/_{4000}$ Oese nach LÖFFLER abgetötet (s. S. 54), d. h. also die Dosis von 0,000195 mg Bakteriensubstanz wirkte bei intravenöser Einspritzung noch als Antigen (bakteriolyt. Titer 0,001—0,005, Agglutinationstiter 1:80 (vor der Impfung 0,01—0,05 bzw. unter 1:10).

Es ist keine Frage, daß für viele Fälle eine solche Methode der Impfung mit minimalen Dosen ihre großen Vorzüge haben wird, es sei nur darauf hingewiesen, daß sie von wissenschaftlichem Wert ist zum vergleichenden Studium der verschiedenen Immunisierungsmethoden: Einfluß der Antigenbeschaffenheit auf die Antikörperproduktion, Intensität der Antikörperbildung unter den verschiedensten äußeren Einflüssen usf., vgl. z. B. die Arbeiten von FRIEDBERGER[2], C. FRÄNKEL[2], P. TH. MÜLLER[5,6].

Die Erfahrungen mit der Immunisierung durch kleinste Dosen mußten die Hoffnung erwecken, daß auch für praktische Zwecke, speziell für die Schutzimpfung (z. B. des Menschen), die Methode weiter nutzbar gemacht werden könnte. Diese Frage ist durch die vorliegenden Versuche noch nicht hinreichend geklärt. Für bestimmte Infektionskrankheiten gilt vorläufig immer noch der Satz: ohne erhebliche Erschütterung des Organismus keine Immunität! Hier ist auf die Erfahrungen R. PFEIFFERS zu verweisen, der bei Pest einen Schutz nur durch relativ hohe Dosen erreichen konnte und auch für Typhus der Anwendung der sehr kleinen Impfstoffdosen nicht das Wort redet.

Daß auch mit Extrakten aus kleinsten Mengen von Bakterien unter Umständen ein starker Immunisierungseffekt erzielt werden kann,

geht aus Versuchen von BRIEGER (s. S. 73), sowie von FRIEDBERGER hervor; C. PRAUSNITZ fand bei einem mit dem wässerigen filtrierten Extrakt aus $^{1}/_{50}$ Oese Cholerakultur intravenös behandelten Kaninchen einen bakteriziden Serumtiter von 0,005—0,0075 ccm. Natürlich kommen nur solche Extrakte für die Beurteilung unserer Frage in Betracht, die nachweislich keine lebenden Bakterien mehr enthalten. —

Auch für die Erzeugung spezifischer Hämolysine ist diese Impfung mit minimalen Antigendosen anwendbar: FRIEDBERGER & DORNER erhielten bei Kaninchen nach intravenöser Injektion von $^{1}/_{2}$—1 mg (= 300000—900000 Blutzellen) einer 50-proz. Ziegenblutkörperchenaufschwemmung schon Steigerungen des hämolytischen Vermögens um das 5—20-fache des Normalwertes.

Präzipitine konnte SCHUR mit nur 0,004 g Eiweiß erzeugen. (Zitiert bei KRAUS.)

Ein Beispiel dafür, daß in einer mit verschieden großen Eiweißquantitäten behandelten Kaninchenreihe gerade das Tier, das die kleinste Menge erhielt, das stärkste Präzipitin aufwies, gibt ROSTOSKI, hierbei ist natürlich die Individualität zu berücksichtigen.

Es bedarf noch der systematischen Untersuchung, wie die wiederholte Impfung minimaler Dosen die Antikörperbildung beeinflußt, wie sich ferner die Spezifität verhält: FRIEDBERGER vermutet, daß auf diesem Immunisierungswege vielleicht sogar eine strengere Spezifität zum Ausdruck kommen könne.

Bei Verwendung verschieden präparierter Antigene (Cholera, Typhus) konnten FRIEDBERGER & MORESCHI[1] des weiteren bei der aktiven Immunisierung von Kaninchen feststellen, daß eine Proportionalität zwischen Menge von Antigen und Stärke der Antikörperbildung bei solchen Impfstoffen sich nachweisen läßt, die infolge eines verwendeten eingreifenden Abtötungsverfahrens an und für sich schwach wirken. Hingegen ergibt sich eine Abhängigkeit nicht, wenn ein milderes Verfahren eingeschlagen wurde und der Impfstoff kräftiger war: hier wirkten die minimalen Dosen von $^{1}/_{100}$ und $^{1}/_{500}$ Oese pro kg Körpergewicht in gleicher Weise auf die Antikörperproduktion wie die größeren (sogar 2000mal größeren) Mengen, ja die kleinere Dosis erwies sich in den meisten Fällen als stärker wirksam. (Bakterizide Antikörper, Agglutinine.)

Die aus diesen Versuchen hervorgehende Tatsache, daß Antigenmenge und Antikörperbildung durchaus nicht in Proportionalität zu stehen brauchen, ist auch von NEUFELD & HÄNDEL bei der Immunisierung von Kaninchen gegen Pneumokokken beobachtet worden:

Die Wertigkeit des Serums war nicht von der Antigenmenge, sondern von der Stärke der Reaktion abhängig: oft wurden die besten Seren durch Zufuhr kleiner Dosen erhalten. Handelt es sich aber bei der Immunisierung um Organismen, für die die Pathogenität der Pneumokokken keine so hochgradige ist, so wird der Einfluß der Antigenmenge deutlich: bei der intravenösen Behandlung von Pferden und Eseln, die weit weniger empfänglich sind, war durch kleine Dosen ein wirksames Serum nicht zu erzielen, hier mußten große Antigenmengen zugeführt werden, wobei sich schließlich die Unterschiede in der Wirksamkeit des lebenden und toten Antigens verwischen müssen: denn in dem wenig empfänglichen Pferdeorganismus kommt es nicht zu stärkerer Vermehrung der eingeführten lebenden Bakterien, während in dem empfänglichen Kaninchenorganismus eine kleine Dosis des lebenden Virus ja binnen kurzer Zeit sich so weit vermehren kann, daß nunmehr der nämliche Immunisierungseffekt auftreten kann, den die Injektion einer von vornherein großen Antigendosis erzielt haben würde.

Hier darf auch auf die Beobachtung Vallées hingewiesen werden, daß bei der intravenösen Zufuhr von lebenden Bacillen des Nocardschen Tuberkulosestamms (isoliert von Pferdetuberkulose, avirulent für Rinder) die entstehende Resistenzerhöhung (gegen bovine Bacillen stomachal oder gegenüber der natürlichen Infektion) direkt proportional der verabreichten Impfstoffmenge ist.

Daß die Antigenmenge je nach dem Applikationsmodus verschieden groß zu bemessen ist, erhellt aus zahlreichen in diesem Beitrag niedergelegten Beispielen; hier sei noch verwiesen auf die Versuche von Mertens, Friedberger & Dorner, die für die Einfuhr sehr kleiner Impfdosen feststellten, daß auf intravenösem Wege schon Dosen Antikörperbildung auslösten, die subkutan keine Wirkung erzielten.

Der Einfluß der Impfstoffdosis auf die Entstehung allgemeiner Immunität bei subkutaner Impfung von Kaninchen mit Vaccinelymphe geht aus Versuchen von Süpfle & Eisner hervor: Diesen Autoren gelang es auf diesem Wege nicht, nach kleinen Dosen auch eine Ausdehnung der Immunität auf die Cornea herbeizuführen, erst nach Injektion großer Dosen trat Immunität (partielle) der Cornea auf.

Die Frage, ob man zur Erhöhung der Immunität steigende Dosen oder gleichbleibende verwenden soll, läßt sich nicht allgemein beantworten, es ist seit Ehrlichs klassischen Untersuchungen über die Abrin- und Ricinimmunisierung üblich geworden, die Antigendosen mit jeder neuen Injektion zu erhöhen: für viele Fälle fehlt aber eine wissenschaftliche Begründung dieser Verallgemeinerung. Für die Hämolysin- und Präzipitingewinnung ist sicher die aufsteigende Dosierung nicht nötig, ja bei intravenöser Injektion wegen Störungen durch Ueberempfindlichkeit sogar schädlich. L. Michaelis empfiehlt für die Präzipitingewinnung bei der ersten Injektion eine reichliche Dosis (5—10 ccm) intravenös zu verabreichen, da gerade geringe Mengen die Ueberempfindlichkeit für die nächste Injektion begünstigen. Er empfiehlt bei schon bestehendem Präzipitin die Weiterbehandlung mit ganz kleinen Dosen.

Bei der Immunisierung mit Tetanus- oder Diphtheriegift (Pferd) im Pasteurschen Institut pflegt man die anfängliche Dosis des abgeschwächten Giftes (s. S. 106) nicht zu steigern, sondern die gleiche Dosis — nach Ablauf der jedesmaligen Reaktionen — so lange zu verabreichen, bis Erscheinungen nicht mehr auftreten, erst dann wird gesteigert (unverändertes Toxin).

Daß eine starke Steigerung der Antigendosis unter Umständen zur Antikörperverarmung führen kann, die auch nicht wieder ausgeglichen wird, zeigten für Tuberkuloseantikörper Calmette & Massol. Andererseits sind Beispiele bekannt geworden, daß bei konservativem Festhalten an niedrigen Impfdosen der durch die erstmalige Injektion in die Höhe getriebene Antikörpertiter stark absank, trotz der weiteren Behandlung (Lüdke, Dysenteriebacillen, Kaninchen).

Mit Hinblick auf die Antigenmenge spricht man von einer konservativen Immunisierungsmethode dann, wenn man Tieren nur geringe Antigenmengen verabreicht, die nur so weit gesteigert werden, daß erhebliche Reaktionen nicht auftreten. Die Autoren, die diese Methode benutzen, gehen von den in einzelnen Fällen sichergestellten Beobachtungen aus, daß die Antikörperproduktion

weder von der Menge des Antigens noch von der Intensität der Reaktion abhängig ist. Die Beobachtungen sind richtig, man hat auch stärkste Antikörperproduktion ohne deutliche Allgemeinreaktion (Fieber usf.) beobachtet. Es scheint sich dabei aber doch um Ausnahmen zu handeln, man ist ganz und gar abhängig von der Individualität des Tieres, deshalb haben die meisten Autoren diese konservative Methode aufgegeben und sich der heroischen zugewandt: bei dieser wird die Grundimmunität zwar auch mit kleiner Dosis zu erreichen gesucht, nach dieser Schonungsperiode aber steigert man schnell die Dosen und beschleunigt möglichst das Impftempo, so daß in kurzer Zeit große Antigendosen zugeführt werden, die, wie man sich vorstellt, alle zur Antikörperproduktion geeigneten Zellen mobil machen. Ohne stärkere Reaktionen geht es hierbei nicht ab. Solche Beispiele sind die Pneumokokkenimmunisierung Neufelds, die übliche Diphtherietoxinimmunisierung der Pferde, die Dysenterieimmunisierung usf.

Man setzt dabei viel auf eine Karte und muß gewärtig sein, daß auch hie und da ein Impftier zugrunde geht. Man wird daher mehrere Tiere gleichzeitig in Behandlung nehmen, erreicht aber doch durch die heroische Methode ein Ausschalten der Individualität bis zu einem gewissen Grade: die Tiere liefern z. B. gleichmäßiger brauchbare Seren, als bei der konservativen Methode.

In der großen Mehrzahl der Fälle wählt man einen Mittelweg.

Die Herstellung von Massenkulturen zur Gewinnung größerer Impfstoffmengen kann entweder auf flüssigen oder festen Nährsubstraten erfolgen. Man bevorzugt die letzteren, da in den flüssigen Nährmedien die Verunreinigungsgefahr eine größere ist und die Ausbeute an Bakterienzellen ein gewisses Maß nicht übersteigt. Handelt es sich jedoch um Arten, die auf Oberflächen flüssiger Medien Häute bilden (Tuberkelbacillen usf.), so wird man auch auf diesen Böden reichliche Ernten erzielen. Für die Züchtung auf festen Böden ist immer zu berücksichtigen, daß im allgemeinen die Züchtungsbedingungen nicht so günstig sind und je nach Art der Bakterien ein mehr oder weniger schnelles Massensterben eintritt.

Man verwendet größere Reagenzgläser als die üblichen, um ausgedehntere Oberflächen zu erhalten, Flachflaschen oder die großen Doppelschalen, die freilich auch oft störende Verunreinigungen aufweisen können. Sehr zweckmäßig sind die Kolleschalen, deren Kulturfläche ungefähr 12 Agarröhrchen entspricht. 1 Agarröhrchen einer 1-tägigen Kultur rechnet man ca. 20 mg = 10 Normalösen. Natürlich schwanken die Kulturmengen in erheblichen Grenzen. Die Nährbodenbeschaffenheit, die Konsistenz, die Art und Weise der Aussaat, die Beschaffenheit des Aussaatmaterials selbst u. a. sind zu berücksichtigen.

Zur Vermeidung der Beimengung von Nährbodenpartikeln beim Ablösen der auf festen Nährböden gezüchteten Bakterien sind am zweckmäßigsten möglichst konsistente Nährböden zu nehmen. Sie bieten aber den großen Nachteil, daß das Bakterienwachstum dadurch Einbuße erleidet, vielleicht ergeben sich auch qualitative Veränderungen. Man kann dem entgegenwirken dadurch, daß man bei der Besäung der härteren Nährbodenflächen reichlicher Feuchtigkeit aufbringt, indem man nicht mit Kulturmaterial direkt, sondern mit Tropfen von Suspensionen in Bouillon die Flächen impft.

III. Qualität des Antigens: Virulenz, Bindungsvermögen, Nährbodeneinfluß.

Durch zahlreiche Beobachtungen ist erwiesen, daß auch eine Immunität durch Verabreichung avirulenter Kulturen zu erzielen ist (so z. B. für Cholera, Pfeiffer & Marx); es wäre für die aktive Immunisierung sehr viel gewonnen, wenn dieser Satz eine allgemeine Gültigkeit hätte. Das ist leider nicht der Fall. In manchen Fällen scheint in der Tat die Auslösung der Bildung geeigneter Immunkörper nur durch die mit der Virulenz des Antigens in Zusammenhang stehenden Faktoren bedingt zu sein.

Für die Immunisierung gegen Pest ist durch R. Pfeiffers Versuche an Makaken festgestellt, daß nur dann eine ausreichende Immunität zu erwarten ist, wenn die zur Herstellung des Impfstoffs — Erhitzen auf 65°, Zusatz von 0,5 Proz. Phenol — benutzte Kultur eine hohe Virulenz besitzt, mit einer in gleicher Weise präparierten abgeschwächten Kultur wurde keine Immunität erzielt (Bericht der Deutschen Pestkommission).

Für Cholera ist von R. Pfeiffer & Friedberger[1] angegeben worden, daß der immunisierende Effekt von der Virulenz der Kultur in Abhängigkeit steht (für Cholera bestätigt durch Strong, Wassermann & Cole).

Wassermann[2] hat dann für Typhusbacillen gezeigt, daß für die immunitätauslösende Reaktion diejenigen Stämme am geeignetsten sind, welche die stärkste Bindungskraft für die Ambozeptoren des Immunserums besitzen, bei Typhus braucht die Virulenz mit diesem Bindungsvermögen nicht Hand in Hand zu gehen.

Zu den gleichen Resultaten, wie Wassermann bei Typhus, gelangten Meinicke, Jaffé & Flemming bei Cholera: bei intravenöser Einverleibung von $^1/_{10}$ Oese Cholerakultur (abgetötet) stand die Höhe des erreichten bakteriziden Titers in keinem Verhältnis zu der Virulenz der Kultur: das mit einem alten avirulenten Stamm erzeugte Serum hatte in einem Fall sogar höheren Titer als ein mit hochvirulentem Stamme gewonnenes.

Haendel studierte einen avirulenten Cholerastamm, der in vitro Antikörper gut abzusättigen vermochte, als Antigen aber fast völlig unbrauchbar war.

Auch Lüdke[1] glaubt bei einem Dysenteriestamme von geringerer Virulenz ein größeres Ambozeptorbindungsvermögen beobachtet zu haben: der Stamm lieferte ein Serum von sehr hohem bakteriziden Titer (man vermißt die Berücksichtigung der Tierindividualität). Friedberger & Moreschi beschreiben einen Typhusstamm, der dem Wassermannschen glich, aber sie beobachteten bei anderen Typhusstämmen auch das schon bei Cholera Konstatierte: hohe Virulenz verknüpft mit starkem Bindungsvermögen, ferner Verschiedenheit der antikörperbildenden und -bindenden Gruppen (für Agglutinin und Bakteriolysin).

[Vgl. auch Bruck (Tetanusbouillon, ungiftig, bindet noch, aber immunisiert nicht) sowie Forssman (rote Blutkörperchen in Kollodiumsäckchen), ferner Coca (osmierte Blutkörperchen).]

Man wird nach alledem dem Ratschlag R. Pfeiffers[3] folgen und z. B. bei Immunisierung des Menschen gegen Typhus einen solchen Stamm zur Antigenherstellung auswählen, der bei Vor-

prüfungen im Tierversuch (und bei Menschen?) eine starke antikörperbildende Kraft entfaltet.

Friedberger[4] empfiehlt für die Auswahl geeigneter Stämme zunächst mit kleinen Dosen in Vorversuchen diese antigenetische Fähigkeit zu prüfen. — Das systematische Suchen nach geeigneten Stämmen dürfte auch in manchen Fällen die Verwendung eines Gemisches verschiedener Stämme der gleichen Species überflüssig machen (polyvalente Impfstoffe, s. Kolle, Bd. I), in anderen Fällen aber wird gerade die Gewinnung von Impfstoffen durch Mischungen von Stämmen zu erproben sein, wenn, wie bei Typhus, die einzelnen Stämme so weitgehende Verschiedenheiten in ihrem Verhalten als Antigene aufweisen.

Mit einem avirulenten Pneumokokkenstamm konnten Neufeld & Rimpau bei Kaninchen Immunität nicht erzielen. Dasselbe gilt auch für Streptokokken: das durch avirulente Streptokokken gewonnene Immunserum hat keine immunisierende Wirkung (hingegen enthält es Agglutinine auch gegen hochvirulente Streptokokken).

Die Möglichkeit, mit avirulenten Bakterien eine Immunität zu erzeugen, besteht ferner nicht oder ist eine sehr geringe bei Tuberkulose: siehe Römer[4], Hamburger, Kraus & Volk[2]. Die letzteren konnten bei Makaken mit für diese Tiere avirulenten Geflügeltuberkelbacillen (kutane Impfung durch Skarifikation) die Reinfektion durch menschliche Tuberkelbacillen nicht verhüten (obwohl an der Impfstelle Vermehrung der Hühnertuberkelbacillen eingetreten war). Vgl. auch die Versuche mit Nocards Tuberkulosestamm bei Vallée, S. 138.

Von Interesse ist, daß selbst abgetötete Bakterien virulenter Kulturen (Pneumokokken, Pest) noch besser immunisierend wirken, als die lebenden abgeschwächten oder avirulenten Organismen (für Pneumokokken von Neufeld, bei Pest von R. Pfeiffer festgestellt).

Von demselben Bakterienstamm wirken die lebenden Bakterien in der Regel stärker immunisierend als die abgetöteten, die Bindungsfähigkeit der letzteren ist nach Wassermann herabgesetzt.

Wenn sich auch avirulente Stämme im allgemeinen für das Herbeiführen einer aktiven Immunität wenig eignen, so sind sie doch in manchen Fällen zur Einleitung der Immunität (Grundimmunität) oder zur Erzeugung spezieller Antikörper verwendbar gefunden worden. Es zeigt sich aber, daß die entstehenden Antikörper oft nur gegen den gerade verwendeten Stamm bindende Gruppen besitzen und daß durchaus nicht eine gleichmäßige Produktion der verschiedenen Antikörper erfolgt, sondern meist nur eine einseitige und diese auch nicht die Höhe erreicht, die schneller mit virulentem Material zu gewinnen ist (Beispiel: Gildersleeve, Pyocyaneus).

A. Ascoli empfiehlt für die Gewinnung von Milzbrandpräzipitin avirulente Stämme zu nehmen, da es ja für die Reaktion nur auf die Zellbestandteile, nicht auf die Virulenz ankommt, welch letztere die Immunisierung erschwert.

Zu erwähnen ist, daß nach Beobachtungen von Delanoë avirulente Bakterien (Arloings Tuberkulosekultur; Typhus) eher Anaphylaxie herbeizuführen scheinen als virulente.

Im Zusammenhang hiermit sei erwähnt, daß für die Immunisierung mit Diphtherietoxin von Martin, Prevot & Loiseau beim Zurückgehen auf ein schwächeres Toxin (nach Vorbehandlung mit höherwertigem Gift) ein Rückschlag in dem Antitoxingehalt be-

obachtet wurde, sie empfehlen, Toxine von gleicher Giftigkeit anzuwenden.

Die Methoden der künstlichen Virulenzänderung s. Bd. I. Daselbst auch Einfluß des Nährbodens auf die Virulenz. Daß manche Nährböden das Antigen in ganz bestimmter Richtung beeinflussen können, zeigen folgende Beispiele:

Der Einfluß des Nährbodens auf die agglutininogene Fähigkeit von Typhus- und Colibacillen ist von K. GLÄSSNER durch Kaninchenbehandlung studiert worden: züchtete er auf Aminosäuren, so erhielt er mit solchen Bacillen relativ reichliche Agglutinine, obwohl die Agglutinabilität herabgesetzt ist (ähnliche Beobachtung bei BUXTON & VAUGHAN). Die auf zuckerhaltigen Böden gewachsenen Bacillen lösten hingegen nur geringe Agglutininbildung aus.

Die Abhängigkeit des Agglutinogens vom Nährboden erhellt auch aus den Versuchen BORDETS, agglutinierende Sera gegen den Keuchhustenbacillus zu gewinnen: züchtete er auf hämoglobinhaltigen Nährböden und behandelte er mit diesen Bakterien Pferde, so erhielt er ein Serum, das nur die auf solchen Blutkulturen gewachsenen Bacillen, nicht die auf gewöhnlichem Agar gezüchteten agglutinierte. Kaninchen, die mit letzteren Kulturen vorbehandelt wurden, lieferten nur ein Agglutinin gegenüber diesen Kulturen, während das Serum der mit Blutkulturen geimpften Kaninchen sowohl diese als die ohne Hämoglobin gezüchteten Bakterien agglutinierte (BORDET & SLEESWIJK, SLEESWIJK).

Auch gegenüber den komplementbindenden Antikörpern verhalten sich die auf verschiedenen Nährsubstraten gewachsenen Bakterien verschieden: so zeigte TAMIE AMAKO, daß nach Injektion von Dysenteriebacillen, die in inaktivem Immunserum oder inaktivem Normalserum gezüchtet waren, Sera erhalten wurden, die nicht die zur Vorbehandlung der Tiere benutzten, sondern nur die auf gewöhnlichem Nährboden fortgezüchteten Dysenteriebacillen beeinflußten.

IV. Impfturnus.

Einer systematischen Bearbeitung bedarf noch die Frage, welcher Impfturnus, d. h. welche Aufeinanderfolge der einzelnen Antigenverabreichungen am günstigsten ist. Einige Einzelbeobachtungen liegen vor. Vorläufig läßt sich so viel sagen, daß auch hier Art des Antigens, Art der Verabreichung und Tierart zu berücksichtigen sind.

Die üblichste Methode ist der 8-tägige Turnus: man wartet nach der ersten Injektion 8 Tage, läßt die zweite folgen, wartet wieder 8 Tage usf. 8 Tage nach der 2. oder 3. Injektion entnimmt man Serum zur Probe, entblutet oder spritzt weiter, je nach Befund. Bei diesem Verfahren pflegt man nach dem Vorgang EHRLICHS mit jeder neuen Impfung größere Quantitäten des ursprünglich benutzten Antigens oder auch stärker wirksames Antigen von einem zum andern Male einzuführen: wie die Antikörperkurven zeigen, sind nach 8 Tagen die verschiedenen Antikörper in der Zunahme und im Kreislauf befindlich: es wird daher wohl ein bestimmter Teil des Antigens neutralisiert, ein Ueberschuß scheint nötig zu sein, um einen neuen Reiz auf die antikörperbildenden Zellen auszuüben. Diese Anschauung kann aber nicht für alle Fälle zutreffend sein, denn wartet man mit der Reinjektion noch etwas länger, etwa 14 Tage und darüber, so

finden sich oft Antikörper in noch reichlicherem Maße im Blute, und doch tritt auch nach kleinen Antigendosen eine intensive Antikörpersteigerung auf. Das Verhalten von Antigen + Antikörper in vivo ist noch so wenig aufgeklärt, daß sich allein hieraus Folgerungen für das einzuhaltende Impftempo nicht ergeben, man richtet sich nach der Erfahrung, diese lehrt, daß es richtiger ist, den Reinjektionstermin von Temperatur- und Gewichtskurve sowie sonstigem Reaktionsverlauf abhängig zu machen, als von einer schematischen Tagezahl. Für die Einfuhr mancher bakteriellen Antigene scheint es rationell zu sein, den Verlauf der Opsoninkurve als Richtschnur zu nehmen, ob aber damit die Resultate wesentlich anders werden als bei Beobachtung der Lokal- und Allgemeinerscheinungen ist erst noch zu ermitteln. — Brauchbare Präzipitine können auch von abmagernden Tieren gewonnen werden. —

Früher hat man zur Immunisierung häufig das Antigen täglich verabreicht oder in 2—3-tägigen Intervallen, dabei mußten die Dosen relativ niedrig sein, um stärkere Alterationen zu vermeiden. Neuerdings ist diese Methode von Fornet & Müller als Schnellimmunisierungsmethode wieder empfohlen worden:

Antigenverabreichung an 3 aufeinanderfolgenden Tagen, 9—12 Tage nach der dritten Injektion Aderlaß. Eine Verallgemeinerung der Methode ist nicht am Platze, aber die Nachprüfungen zeigen doch, daß sie in manchen Fällen, so für die Gewinnung von Präzipitinen, verwertbar ist, siehe hierüber S. 116. Tsuzuki empfiehlt sie auch zur Gewinnung von Agglutininen. Er verwendete 20—24 Stunden alte Agarkulturen, die mit 1—2 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung abgeschwemmt und 1 Stunde bei 60° im Wasserbad gehalten wurden. Einspritzung intravenös. Die Typhustiere starben oder mußten wegen Erkrankung am 8. Tage nach der 3. Impfung abgezapft werden. Der Agglutinationstiter betrug 1 : 1000, die Kulturdosen schwankten zwischen $^1/_5$ und $^1/_{20}$ Kultur (tödliche Dosis $^1/_2$ Kultur). Von 4 Paratyphustieren (Einzeldosis $^1/_{10}$—$^1/_5$ Kultur) starben 2 während der Behandlung, von den anderen beiden zeigte 1 Tier einen Titer von 1 : 10 000, das andere einen solchen von 1 : 100. Von den Meningokokken-Kaninchen zeigte das eine nach Einführung von insgesamt $1^5/_6$ Agarkultur einen Titer 1 : 100, ein Cholerakaninchen (nach $1^2/_3$ Kultur) einen solchen von 1 : 5000.

Tsuzuki empfiehlt bei mittlerer Virulenz eines Bakterienstammes am 1. Tag $^1/_{20}$, am 2. Tag $^1/_4$, am 3. Tag $^1/_2$ Agarkultur zu verabreichen, wenn man binnen 12 Tagen einen Titer von 1 : 1000 erhalten will.

Infolge der großen Tierverluste bei dieser Methode dürfte sie kaum empfehlenswert sein, zumal der Effekt gar nicht ein so bedeutender ist, wie ihn Tsuzuki darstellt, der offenbar andere Immunisierungsmethoden nicht genügend zum Vergleich herangezogen hat. Bemerkenswerte Erhöhung des Agglutinationstiters (bei Paratyphus, Meningokokken, Cholera) erhielt Tsuzuki erst, als er bei je einem der überlebenden Tiere nach schonender Blutentnahme und mindestens 10-tägiger Erholungspause einen oder mehrere Impfcyklen (bestehend aus dreimaliger Injektion steigender Dosen wie bei der ersten Schnellimmunisierung) folgen ließ. Damit aber wird die Gewinnung eines gut wirksamen Serums weit in die Länge gezogen. Die Versuche Tsuzukis zur Einschränkung der Tierverluste an Stelle der durch Erwärmen auf 60° abgetöteten Bakterienzellen Antiforminantigene für die Schnellimmunisierung zu verwenden, führten nicht zu dem gewünschten Erfolg, da auch hierbei zahlreiche Tiere zugrunde gingen, vgl. S. 78.

Zur Gewinnung von Agglutininen gegen Enteritisbakterien eignet sich diese Schnellimmunisierung nicht (Sobernheim & Seligmann[2]), hingegen wurde sie mit Erfolg bei Immunisierung gegen Pneumokokken von E. Levy & Aoki angewandt, die nach Verabreichung von insgesamt 50 ccm karbolisierter Pneumokokken-Eierbouillon Kaninchen gegen die 2 000 000-fache letale Dosis zu schützen vermochten.

Wählt man eine solche forcierte tägliche Zufuhr von Antigen, so muß man jedenfalls immer auf gewisse Unregelmäßig-

keiten, die durch diesen Reiz verursacht werden, gefaßt sein. So sind in diesem Falle die sonst gesetzmäßigen Beziehungen zwischen Titerhöhe und Aviditätswert gestört (Busson), vgl. hierzu auch den Beitrag Antigendosierung.

Zur Gewinnung von hochwirksamen Rotlaufserum sind nach Schnürer bei Pferden rasch aufeinanderfolgende Injektionen geeigneter als die langsamer erfolgenden der gleichen absoluten Antigenquantität.

In anderen Fällen scheint das Arbeiten mit großen Intervallen sehr brauchbar zu sein, so bevorzugen manche Autoren für die Präzipitingewinnung ein 4 Wochen langes Pausieren, eine Reinjektion löst dann stärkste Antikörperbildung aus (vgl. oben).

Nach den Erfahrungen von Abe ist es zur Verlängerung und Verstärkung des Typhusschutzes richtiger, zwischen 2. und 3. Injektion (je 2 mg) eine größere (etwa 10 Monate lange) Zwischenpause verstreichen zu lassen, als die dritte Impfung unmittelbar der zweiten folgen zu lassen.

Die Wahl des Impftempos soll sich, wie erwähnt, auch nach der Applikationsweise, aber auch nach der Antigenmenge richten. Falls, wie bei der subkutanen oder intramuskulären Injektion, eine nur langsame Resorption zu erwarten ist, so wird man mit der Neuinjektion in der Regel länger zu warten haben. Bei der Immunisierung per os wird zunächst der Forderung großer Dosen auch die der häufigen und raschfolgenden Zufuhr zu erheben sein. Bei der parenteralen Applikation wird man durch häufige Reizung durch kleine Gaben oft erreichen, daß die Antikörperkonzentration längere Zeit hindurch auf einer bestimmten Höhe gehalten werden kann.

Bei der parenteralen Applikation ist hinsichtlich des Immunisierungsturnus auf etwaige anaphylaktische Erscheinungen Rücksicht zu nehmen, hierüber sowie über die Vermeidung der Ueberempfindlichkeit, Erzeugung von Antianaphylaxie usf. s. dies. Bd., Doerr.

Was die Herstellung einzelner Antikörper betrifft, so lehren zahlreiche in diesem Beitrag erwähnte Beispiele, daß man auch mit einer einmaligen Impfstoffverabreichung hohe Titerwerte erzeugen kann. Das scheint allerdings wohl nur bei intravenöser Verabreichung möglich zu sein (Friedberger, Friedberger & Moreschi, Wassermann-Cole etc.). Für die Schutzimpfung (z. B. gegen Typhus, Cholera) ist unbedingt der mehrmaligen Antigenzufuhr das Wort zu reden, nicht nur, weil damit eine weitere Erhöhung des Wertes der einzelnen Antikörper eintritt, sondern weil, wie aus den Versuchen von Friedberger & Moreschi hervorgeht, der Schutz ein vielseitigerer wird: bei Typhus z. B. zeigte sich dann das Serum auch den verschiedenen Rassen gegenüber gleichmäßiger und stärker wirksam.

Bei Vorbehandlung von Pferden mit abgetöteten Choleravibrionen (intravenös) kommt es nach Carrière & Tomarkin zur Bildung von Antiendotoxinen niemals nach wenigen Injektionen, vielmehr ist erst bei langdauernder Behandlung auf diese Komponente des Serums zu rechnen.

Was die in besonders nahem Zusammenhang mit dem Impfturnus stehende Frage der Dauer des Impfschutzes betrifft, so wird im allgemeinen das Bestreben obwalten müssen, eine möglichst langdauernde Immunität zu erzielen, es kann aber dieses Moment auch in den Hintergrund treten: ist das Virus außerhalb des Organismus nur

kurze Zeit lebensfähig oder erlischt die Virulenz bald, so wird nach erfolgreicher Durchimpfung, die die Seuche abschneidet, eine langanhaltende Immunität keinen weiteren Nutzen bringen, wenn alle anderen Infektionsquellen verstopft sind.

V. Konservierung der Antigene.

Eher oder später treten an jedem Antigen molekulare Veränderungen auf, die sich in quantitativer und qualitativer Richtung äußern: während wir dem ersteren Uebelstand durch Erhöhung der Applikationsdosis aus dem Wege gehen können, leitet die Verwendung der beim Aufbewahren in ihrer Qualität veränderten Antigene die Antikörperbildung oft in andere, nicht gewünschte Bahnen.

Die Konservierungsmethoden verfolgen die Aufgaben, das Antigen nach Menge und Beschaffenheit möglichst lange zu erhalten und gleichzeitig vor Verunreinigung zu schützen; in manchen Fällen weist man dem Konservierungsmittel auch wohl noch die Aufgabe zu, in Impfstoffen, die aus abgetöteten Bakterien bestehen, dem Abtötungsprozeß etwa entgangene Exemplare nachträglich unschädlich zu machen; oder, wenn es sich — wie bei der Kälberlymphe — um Vermischung mit nicht gleichgültigen Begleitbakterien handelt, diese abzuschwächen, um den Impfverlauf zu mildern.

Im allgemeinen sind die Maßnahmen zur Konstanterhaltung der Antigenfähigkeiten die gleichen wie die zur Aufbewahrung der Antikörper, letztere ist behandelt in diesem Bande S. 203.

Die allgemeinsten Anforderungen sind: Schutz vor Wärme, Licht und Luft bzw. Sauerstoff. Man wird demgemäß die Impfstoffe im Kühlen und Dunkeln halten, die Aufbewahrungsgefäße verschließen oder luftleer machen. Bei Trockenimpfstoffen ist auf das Fernhalten von Feuchtigkeit Gewicht zu legen, man hält sie in gleichmäßig trockener Luft, z. B. in Exsikkatoren.

Ist man imstande gewesen, das Antigen völlig aseptisch zu gewinnen, so ist die Kälte an sich schon ein ausgezeichnetes Konservierungsmittel; namentlich im eingefrorenen Zustande (Frigo, flüssige Luft) sind Antigene sehr lange haltbar gefunden worden. Hierher gehört auch die Aufbewahrung von Kulturen (Streptokokken usf.) im Eisschrank zur Virulenzerhaltung (s. Bd. I).

Chaumier vermochte Vaccine lediglich durch niedere Temperatur über 2 Jahre virulent zu erhalten, er läßt die frisch gewonnene Lymphe zunächst 1—2 Wochen bei Zimmertemperatur, dann 3 Monate im Eisschrank stehen. Nach Abfüllung auf Röhrchen Aufbewahrung im Frigo bei -10^0.

Wenn wir berücksichtigen, daß die meisten Konservierungsmethoden, namentlich die chemischen, das Antigen mehr oder weniger verändern, so sollte man doch mehr und mehr auf aseptische Gewinnung und Aufbewahrung (z. B. in zugeschmolzenen Gläsern) bedacht sein. Der Zusatz von Antisepticis sollte doch immer nur als Notbehelf dienen und nicht zum Usus werden.

Auf den Schutz vor Luftzutritt wird in der Regel nicht in besonderem Maße Rücksicht genommen, es dürfte aber doch angezeigt sein, auch zur Konservierung der Antigene den Sauerstoff möglichst zu entfernen (vgl. Ehrlichs Serumkonservierung).

Es kommen als wichtigste Konservierungsverfahren hinzu 1. die Trocknung, 2. Zusatz von Chemikalien.

1. Die Trocknung.

Die Verfahren sind angegeben S. 15, 122 und 205.

Die Konservierung lebender Antigene durch Trocknung ist ein sehr altes Verfahren: Jenner benutzte es schon. Er zog Seiden- oder Baumwollfäden durch die eröffneten Impfpocken, ließ antrocknen und erhielt so ein versandfähiges Impfmaterial. (Hieran erinnert die Konservierung des Antigens bei der Thomasschen Schweif-Fadenimpfung gegen Rauschbrand: hierbei werden Seidenfäden mit rauschbrandigem Material getränkt und getrocknet.) Auch an Glas- oder Holzstäbe, auf Glasplatten, auf Elfenbeinplättchen, an Lanzetten wurde Lymphe angetrocknet.

Trockenlymphe wird auch heute noch namentlich für den Versand nach den Tropen hergestellt, das Trocknen geschieht im Vakuum, danach Pulverisieren. (Animale Lymphe in Pulver, Schweizer Serum- und Impfinstitut Bern.)

Man hat dann die Tatsache, daß Enzyme im trockenen Zustande gut haltbar sind und sogar Erhitzung auf 100—150° vertragen, auch für die Konservierung von Toxinen, Bakterien usw. benutzt. Die Toxintrocknung ist zumeist mit Reinigungsverfahren in Verbindung gebracht (s. Bd. I bei Pick). Die Konservierung von bakteriellen Impfstoffen durch Trocknung muß namentlich nach den Löfflerschen Versuchen als aussichtsvoll gelten.

Sehr brauchbar ist die Trocknungsmethode zur Konservierung von Präzipitinogen: Nach Uhlenhuth lieferten Blut oder Serum, das in Petrischalen in dünner Schicht (1—5 mm) in der Sonne oder im Brutschrank bei 37° getrocknet, abgekratzt und in Reagensgläser eingeführt worden war, noch nach 4 Jahren hochwirksame Antisera.

Weil & Braun strichen Organbrei auf Glasplatten dünn aus und trockneten bei 37°. Die trockenen Partikelchen sind im Exsikkator aufzubewahren, können dann mit Sodalösung unter Thymolzusatz fein verrieben werden. Zur Extraktion bleibt das Ganze 1—2 Tage bei 0° stehen und wird zentrifugiert (vgl. S. 237).

Seitdem wir über Schnelltrocknungsapparate (Faust-Heim) und auch über geeignete Organtrocknungsverfahren (Wiechowski) verfügen, dürfte diese Konservierungsmethode noch weitere Ausdehnung finden. Daß es auch auf das Tempo der Austrocknung bei der Konservierung ankommt, geht aus vielfachen Versuchen hervor (Lyssagift wird bei langsamer Austrocknung schließlich zerstört, bei schneller Trocknung in dünnen Portionen bleibt es erhalten).

Wie namentlich bei den eingetrockneten Seren, so stört auch bei Trockenimpfstoffen oft die Abnahme der Lösungsfähigkeit, aber auch die Antigenqualität bleibt beim Trocknen durchaus nicht immer die gleiche, namentlich bei den Trockentoxinen (Diphtherietoxin, Tetanustoxin usf.) ist das seit langem bekannt: inwieweit für diese Veränderungen die voraufgehenden Reinigungs- und Fällungsverfahren verantwortlich zu machen sind und nicht allein die Trocknung, ist noch nicht für jeden Fall sichergestellt.

Eine besondere Art der Trocknungsmethode stellt die von Löffler gehandhabte Methode des Austrocknens von Serum und auch von bakteriellen Antigenen an Würfelzucker (s. S. 206) dar, der dann im Exsikkator gehalten wird: die Sera blieben bei dieser einfachen Aufbewahrung löslich bis über ein Jahr.

Ueber Trocknung durch Bindung des Wassers an Glaubersalz (Verfahren Fränkel-Elfer) s. S. 206.

Die Länge der Haltbarkeit von Trockenimpfstoffen läßt sich nicht abschätzen, sie muß von Fall zu Fall ermittelt werden: Herstellungsweise, Art des Antigens und vor allem die Aufbewahrungsbedingungen sind von Einfluß.

Der Wassermannsche Typhustrockenimpfstoff war in zugeschmolzenen Glasröhrchen mindestens 3 Monate lang haltbar (Kaninchenversuch).

Das Virus der Poliomyelitis konnte über Schwefelsäure im trockenen Zustande 14 Tage, über Kali caust. 24 Tage konserviert werden (Levaditi & Landsteiner).

Es gibt Beispiele, aus denen die Ueberlegenheit der Trockenkonservierung gegenüber der durch die zurzeit übliche chemische Konservierung hervorgeht, so die Konservierung des sehr labilen Endotoxins der Keuchhustenbacillen (Bordet & Gengou).

Konservierung der Kälberlymphe zur Aufbewahrung bei höherer Temperatur usf. (s. Bd. VI).

2. Zusatz von Chemikalien.

Hier ist zu verweisen auf alle die chemischen Zusätze, welche zur Erzielung der Abtötung lebender Krankheitserreger bei der Antigendarstellung aufgezählt wurden, s. S. 57. Obwohl jedoch diese Mittel und ihre Konzentrationen von vornherein so ausgewählt wurden, daß die Antigene dabei möglichst geringe Schädigung erfuhren, so werden doch die zum Zweck der Tötung erfolgten Zusätze der großen Mehrzahl nach sich für längere Antigenkonservierung als ungeeignet, weil zu stark, erweisen.

Nach einigen Autoren äußert sich der Zusatz von Chemikalien verschieden: werden sie zu den bereits toten Bakterienzellen zugesetzt (als Konservierungsmittel), so verhalten sie sich anders, als wenn sie zur Tötung benutzt werden, auch bei gleichem Prozentsatz. Das läßt sich aber gar nicht verallgemeinern, es kommt auf die Mittel und die Antigenarten an.

Die verbreitetste Anwendung für bakterielle Antigene hat Phenol gefunden, man nimmt in der Regel 0,5 Proz., kommt aber in den meisten Fällen wohl auch mit 0,3 Proz. aus, wodurch der Vorteil der geringeren Phenolzufuhr mit der Antigeneinverleibung verbunden ist. Zu vermeiden ist die Zugabe des konzentrierten Phenols, man stellt sich vielmehr meist eine 5- oder 3-proz. Phenollösung her, von der man 1 Teil zu 9 Teilen Impfstoff zufügt.

Von R. Pfeiffer & Marx ist an Menschen und Kaninchen durch Bestimmung des bakteriziden Serumtiters festgestellt, daß der Zusatz von 0,5 Proz. Phenol zu Cholera- und Typhusimpfstoffen (Aufschwemmung von 3 Agarkulturen in 5 ccm Bouillon oder Kochsalzlösung, Erwärmen auf 70° eine Stunde lang) das Lysinogen nicht schädigte, und zwar erstreckte sich die Konservierung auf mindestens 4—10 Wochen, auch wenn die Impfstoffe bei 37° gehalten wurden.

Auffallend ist, daß die mit dem $2^1/_2$ Monate lang karbolisierten Typhusimpfstoff behandelten Menschen Erhöhung des Agglutinationstiters nicht aufwiesen. Daß die kürzere Zeit karbolisierten durch Wärme abgetöteten Typhusbacillen auch als Agglutinogene wirken, ist bekannt.

Da die meisten heute zur aktiven Immunisierung des Menschen zur Anwendung kommenden bakteriellen Impfstoffe mit Phenol kon-

serviert werden, so ist es ein Mangel, daß in der Literatur nicht systematische Versuche an großem Material über den Einfluß des Phenols auf die Antigene unter Variierung der verschiedenen Faktoren (Zeit, Temperatur usf.) vorliegen.

Auch für die Konservierung von Präzipitinogen hat sich der Zusatz von 0,5 Proz. Phenol als brauchbar erwiesen, selbst bei intravenöser Verabreichung solcher Antigene an das Kaninchen war bei Verwendung der üblichen Quantitäten eine Phenolvergiftung der Impftiere nicht zu beobachten.

Von manchen Autoren wird Trikresol (0,4 Proz.) bevorzugt.

Ueber Konservierung mit Lysol s. S. 49.

Formalinzusatz hat sich für Antigene fast durchweg nicht bewährt. Die von Loele angegebene Konservierung von Blut- und Fleischauszügen (Präzipitinogen) ist nach den Versuchen von H. Merkel und nach anderen Erfahrungen mit Formalin mit Vorsicht zu handhaben.

Hingegen schädigt ein Formalinzusatz von 1—2 Prom. zu Tetanusgiftbouillon (bei Aufbewahrung im Eisschrank) das Gift relativ wenig (v. Eisler & Löwenstein, hier auch Beschreibung der Entgiftung durch gleichzeitige Belichtung unter Erhaltung der immunisatorischen Fähigkeit). Vgl. auch S. 107.

Eine praktische Vorrichtung zur Konservierung von Flüssigkeiten durch gasförmige Stoffe (z. B. Formaldehyd, Chloroform u. dgl.) empfiehlt E. Freund (s. E. P. Pick[1]).

Konservierung des Präzipitinogens aus menschlichem Blutserum und Blut durch Zusatz von gleichen Teilen (Volumen) 30-proz. Alkohols erreichte Grigorjew (bei Zimmertemperatur $^1/_2$ Jahr haltbar). Vor dem Gebrauch Abdunsten, Lösung des Trockenrückstandes in physiologischer Kochsalzlösung.

Eine weite Verbreitung hat Glyzerin als Konservierungsmittel gefunden, in erster Linie für die humanisierte und animale Lymphe (E. Müller, 1866). Man verwendet 1 Teil Rohlymphe + 3—5 Teile Glyzerinwasser (80 Teile Glyzerin, 20 Teile Aqu. dest.). Für die richtige Abmessung bei kleinen Quantitäten Rohmaterials (Schutzblatter des Menschen) kann man Glaskapillaren benutzen.

Zelliges Material, wie das Pockengewebe, wird nur dann ausreichend durch Glyzerin konserviert, wenn eine innige Vermischung erfolgt (am besten maschinelle Verreibung), ferner wenn ein chemisch reines Glyzerin verwendet wird (G. Paul benutzt bei der Herstellung der Kälberlymphe Glyzerin Ia Sarg in der oben angegebenen Verdünnung). Nach Tomarkin & Serebrenikoff ist es gleichgültig, ob man zur Verdünnung des Glyzerins destilliertes Wasser, Kochsalzlösung oder Salz-Sodalösung verwendet.

Auch die Glyzerinkonservierung hat eine beschränkte Dauer, besonders beschleunigt wird die schädigende Wirkung des Glyzerins durch Aufbewahren bei erhöhter Temperatur: bei 37° wird die Glyzerinlymphe in 9—13 Tagen unwirksam, die Trockenlymphe erwies sich nach 92 Tagen bei dieser Temperatur noch wirksam (Tomarkin & Serebrenikoff). In der Kälte hingegen bleibt das Antigen der Glyzerinlymphe sehr lange haltbar. Elgin fand es nach 4 Jahren bei —12° noch virulent.

Wertvolle Dienste leistet das Glyzerin auch zur Konservierung von Lyssamaterial für die Calmettesche[4] Schutzimpfung: Trocknet

man das Rückenmark von durch Virus fixe verendeten Kaninchen bei 23° (im Brutschrank) wie bei der PASTEURschen Methode stufenweise (3, 4, 5 etc. Tage) und legt das Mark in neutrales Glyzerin ein, so behält das Mark seine bei der Beendigung der Trockenzeit vorhandene Virulenz mindestens 1 Monat bei. Für die Injektion ist das Glyzerin möglichst zu entfernen.

Auch das im Rückenmark von Affen mit Poliomyelitis acuta befindliche Antigen kann durch Glyzerin einige Wochen konserviert werden, es wird konzentriertes oder dreifach verdünntes Glyzerin empfohlen (LANDSTEINER & LEVADITI, RÖMER & JOSEPH, FLEXNER & LEWIS).

Sowohl bei Verwendung des Glyzerins zu Konservierungszwecken als auch zur Antigenherstellung ist zu berücksichtigen, daß Injektionen von Impfstoffen, die reichlichere Mengen Glyzerin enthalten, schlecht vertragen werden (bei Menschen stört die erhöhte Schmerzhaftigkeit, bei Kaninchen und Meerschweinchen treten lokale Nekrosen auf, Mäuse sind noch empfindlicher).

NICOLLE und TRUCHE empfehlen zur Konservierung von Diphtherie- und Tetanustoxin Fällung des Filtrats mit Ammonsulfat, Trocknung, Zugabe (im Ueberschuß) von Glyzerinlösung (Glyzerin, Aqua dest. āā), Eisschrank, mehrmals Schütteln während der ersten Tage. Dauernde Aufbewahrung im Kühlen und Dunkeln. Auch Ricin ließ sich nach diesem Verfahren konservieren.

Für die Konservierung von Hämotoxinen (Staphylolysin) hat sich ein 5-proz. Zusatz von Karbolglyzerin bewährt (Karbol 10,0, Glyzerin 20,0, Aqu. dest. 70,0).

Bakterielle Toxine werden vielfach auch mit Toluol versetzt, R. OTTO überschichtet z. B. das Diphtheriegift mit einer $1^1/_2$—2 cm dicken Schicht von Toluol. Man muß öfters umschütteln, das Toluol sammelt sich oben an. Das giftige Toluol ist vor der Injektion des Antigens mittels Filtration durch angefeuchtete Filter zu entfernen. Das gelöste Toluol kann ebenso wie Chloroform mittels leichten Erwärmens oder Durchlüftens beseitigt werden.

Chloroform wird zu etwa 1 Proz. verwendet; da es zu Boden fällt, so sind die Antigene mehrmals umzuschütteln. Eine Zeitlang scheinen die nach Toluol- oder Chloroformzusatz auftretenden Eiweißfällungen ohne Belang zu sein, später aber leiden auch die Antigene, die schädigende Wirkung des Chloroforms scheint etwas größer zu sein. Die Beseitigung des Chloroforms ist außer durch die genannten Maßnahmen auch durch Zentrifugieren möglich.

Daß Chloroform unter Umständen das Agglutinogen schädigen kann, namentlich wenn dieses in sehr verdünnter Lösung sich findet, zeigte P. TH. MÜLLER[2], s. auch FRIEDBERGER & MORESCHI[1].

Diaphtherin (Oxychinaseptol). SCHÜLLER konservierte Präzipitinogen (Fleischauszüge, aseptisch gewonnen) durch Zusatz von 0,05—0,075 Proz. Diaphtherin; falls das Material Bakterien enthielt, mit 0,1—0,2 Proz.; durch letzteren Zusatz wurden die Bakterien in 8—14 Tagen abgetötet. Die Präzipitinogene hielten sich monatelang wirksam. DUNBAR setzte 0,2 Proz. Diaphtherin zu Kochsalzextrakten von Fischfleisch, Sperma usf. zu (Präzipitinogene), eine Hinderung der Fäulnis trat nicht in jedem Falle ein.

Schließlich ist auf die Reindarstellungsmethoden zu verweisen, von denen einige gleichzeitig eine Konservierung des Antigens zum Ziele haben: Trockentoxin (Ammonsulfat) von BRIEGER &

Cohn; die Aussalzungsmethode liegt auch dem Konservierungsverfahren von E. Marx (Tetanustoxin) zugrunde.

Konservierung durch Schutzkolloide.

v. Wassermann[3] gelang es, Bakterienextrakte (z. B. wässerige, im Schüttelapparat von lebenden Staphylokokken gewonnene und durch Zentrifugieren von den Kokken getrennte Extrakte) dadurch haltbar zu machen, daß er sie mit Gummi arabicum oder noch besser mit 2—4 Proz. Gelatine versetzte. Außerdem fügte er 0,5 Proz. Karbol hinzu (Histopin, s. S. 134). (Von Interesse ist, daß auch die mit Glyzerinpockenpulpa [vom Impftier] imprägnierten Elfenbeinplättchen [plaques ou pointes d'ivoire] nach der Trocknung mit Gummi arabicum — wohl nur zum äußeren Schutze — überzogen wurden, Methode des Brüsseler Impfinstituts in den 80er Jahren des vorigen Jahrhunderts, s. G. Paul.)

VI. Konzentrierung des Antigens.

Die Applikation großer Volumina Impfstoff ist namentlich bei der subkutanen Injektion zu vermeiden, da hierbei leicht Infiltrate und Abszesse auftreten. Man sieht sich daher oft genötigt, z. B. wenn ein nur schwaches Antigen zur Verfügung steht oder wenn reichliche Antigenmengen unbedingt verabfolgt werden sollen, (wie bei der Rotlaufimmunisierung der Pferde), das Material zu konzentrieren, das geschieht:

1. durch Ausschleudern; dies Verfahren verdient den Vorzug, wenn es sich um suspendierte Antigene handelt. Eine Alteration des Antigens ist dabei nicht zu befürchten. Ueber Zentrifugen s. Bd. I;

2. sind größere Volumina von Bakteriensuspensionen einzuengen, so könnte man versuchen, Filtration durch Berkefeld mit Rückspülung vorzunehmen.

3. Eine Einengung ist auch durch spezifische Agglutination zu erzielen: falls eine Zentrifuge oder — bei Verwendung größerer Kulturvolumina — eine solche für größere Flüssigkeitsquanten nicht zur Verfügung steht, kann diese Art der Konzentrierung versucht werden. Schnürer berichtet, daß er durch hochwertiges Rotlaufserum die Bakterien aus Rotlaufbouillon niederschlug, die darüberstehende Flüssigkeit abgoß; damit reduzierte er das Injektionsquantum von 250 ccm auf 50—90 ccm. Diese Methode der Konzentrierung ist auch für erhitzte Bouillonkultur anwendbar, es ist aber doch zu berücksichtigen, daß bei dieser Berührung des Antigens mit dem Immunserum sich nicht nur die Agglutinine an das Antigen heften, sondern auch andere Antikörper (was in manchen Fällen vielleicht sogar wünschenswert ist). Man begibt sich mit Anwendung dieses Verfahrens auf ein vorläufig unsicheres Terrain.

4. Chemische Ausfällungsmittel.

Es sind solche auszuwählen, die das Antigen nicht oder möglichst wenig schädigen. Diese Konzentrationsmethoden fallen zusammen mit den Methoden der Antigenreindarstellung (s. Bd. I, E. P. Pick).

5. Konzentrierung durch Trocknung, Eindampfen usf.

a) Die Konzentrierung bei gewöhnlicher Temperatur erfolgt selbst im Vakuumexsikkator recht langsam. Man evakuiert durch Wasserstrahlluftpumpe einen Exsikkator, der konzentrierte Schwefelsäure oder Chlorcalcium oder Phosphorsäureanhydrid oder Kaliumhydroxyd enthält.

b) Schneller arbeiten die heizbaren Vakuumexsikkatoren (z. B. nach Proskauer, s. Bd. I, S. 547) oder die Vakuumdestillierapparate (z. B. nach Brieger, s. Bd. I, S. 545) oder der Abdampfapparat nach Kasparek, der z. B. bei 27° eine Einengung von 2 l Flüssigkeit auf 200 ccm in $1^1/_2$ Tagen aseptisch ermöglicht (beschrieben bei E. P. Pick[1], daselbst auch Beschreibung einer Vakuumanlage für den Großbetrieb, die 10 l Flüssigkeit bei 35° in einem Vakuum von ca. 70 mm in 10—12 Stunden zur Trockne bringt).

c) Trocknen im Luftstrom unter Erwärmen.

Der Apparat nach Faust-Heim ist beschrieben in Bd. I, S. 549. Wie hoch man bei diesen mit erhöhten Temperaturen arbeitenden Apparaten erwärmen darf, richtet sich ganz nach Art des Antigens, die Angaben hierüber finden sich im Speziellen Teil.

Eine andere Gefahr liegt darin, daß die in dem Ausgangsmedium gelösten Substanzen sich bei diesen Einengungsverfahren ebenfalls konzentrieren: es kann dann durch die stärkere Wirkung von Säure, Alkali, Salzen usf. eine Alteration des Antigens eintreten. Man muß daher in manchen Fällen eine Neutralisierung oder Reinigung (s. Bd. I, bei E. P. Pick) vorausschicken.

Labile Stoffe werden auch bei vorsichtigem Eindampfen verändert und ihrer Spezifität entkleidet (so Rogenextrakt beim Eindampfen im Vakuum bei 40—45°, Dunbar).

6. Konzentrieren durch Einfrieren.

Methode von Bujwid (s. S. 210).

C. Kombinierte aktiv-passive Immunisierung.

Einer der glücklichsten Gedanken in der Methodik der Immunisierung war es, die Wirkung des antikörperhaltigen Serums zu ergänzen durch Verabreichung von Antigen bei dem gleichen zu schützenden Organismus: damit sollte zunächst der kurzdauernde Schutz, den die passive Immunisierung im Gefolge hat, ein nachhaltigerer werden, ohne dem durch die Serumapplikation gewonnenen Vorteil des alsbaldigen Eintrittes des Schutzes Eintrag zu tun. Es war aber durch diese zweckmäßige Kombinierung von aktiver und passiver Schutzimpfung der weitere Vorteil gegeben, nunmehr wieder Antigendosen und Antigenarten anzuwenden, deren alleinige Verabreichung schwere Erscheinungen oder auch tödliche Erkrankung zur Folge gehabt hätte, wie das z. B. die Pasteurschen Methoden der aktiven Immunisierung mit abgeschwächten lebenden Krankheitserregern oft genug erwiesen hatten.

Das Verdienst, dies Prinzip zum ersten Male angewandt zu haben, gebührt Lorenz, der Schweinen zunächst Rotlaufimmunserum

einspritzte und 3—5 Tage nachher denselben Impflingen lebende Kultur verabreichte. Damit erreichte er in der Tat, daß der Impfschutz ein sofortiger und zugleich ein langdauernder war, auch konnte der Schutz noch durch Wiederholung der Kulturinjektion verlängert werden.

Durch die praktischen Erfolge, die LORENZ zur Seite standen, vermochte er prinzipielle Bedenken, die z. B. von VOGES geäußert wurden, zu zerstreuen; sie kommen auch in der Tat, zumal nach dem weiteren Ausbau der Rotlaufimmunisierungsmethode, für diese Seuche praktisch nicht in Frage. Hingegen hat es sich gezeigt, daß für die Anwendung dieses Kombinationsverfahrens bei anderen Infektionskrankheiten die Dinge komplizierter liegen. Man wurde mehr und mehr auf das Prinzip dieses Verfahrens aufmerksam, als KOLLE & TURNER sowie THEILER & PITCHFORD diese Methode mit Erfolg so ausführten, daß sie den Impflingen hochwertiges Immunserum auf der einen Körperhälfte und virulentes Pestblut auf der anderen Seite gleichzeitig injizierten.

Seitdem hat diese Methode dauernd an Terrain gewonnen. Noch heute aber gilt es dabei die Schwierigkeiten zu überwinden, die auf Grund theoretischer Erwägungen schon bei der Einführung des methodischen Prinzips befürchtet worden sind und die sich auf die Fragen konzentrieren:

1. Können durch die Impflinge, die mit lebendem, virulentem Material behandelt werden, bei dieser Kombinationsmethode nicht vielmehr die Krankheitserreger verbreitet werden?

2. Kann das antikörperhaltige Serum nicht auch den Eintritt der aktiven Immunisierung verhindern?

3. Oder kann, wenn das Serum zu schwach oder ungeeignet, das Antigen den Impfling nicht vielmehr infizieren?

Diesen Einwänden ist auch heute noch Berechtigung zuzuerkennen, wie aber schon erwähnt, ist die Methode verschieden zu beurteilen, je nach Art der Infektionserreger, gegen welche immunisiert werden soll und je nach Art des Serums, das uns für diese kombinierte Methode zur Verfügung steht. Die Verhältnisse der gegenseitigen Beeinflussung des antikörperzuführenden Serums und des Antigens, das die aktive Immunisierung einleiten soll, sind noch keineswegs klargelegt: man erkennt das auch daran, daß die einen Autoren den Schwerpunkt bei der Beschaffenheit des Antigens, die anderen Autoren aber bei den Eigenschaften des Serums suchen. Beide Impfstoffe müssen in einem gewissen Verhältnis zueinander stehen, sie müssen in der Schwebe gehalten werden, was an und für sich ja schwierig erscheinen muß, da die gegenseitige Einwirkung sich in einem Organismus vollzieht, der seinerseits in die gegenseitige Beeinflussung eingreift.

Wie erwähnt, haben sich bei Rotlauf die richtigen Wege finden lassen, die Impfung führt zu aktiver Immunität, ohne daß das Virus, wie neuerdings auch durch A. HELFERS wieder festgestellt worden ist, propagiert wird. Gewiß sind die Rotlaufbacillen nach der LORENZschen Impfung von SCHÜTZ & VOGES im Blut 6 Tage lang (vom 10., 11. Tage nach der Injektion ab) gefunden worden, aber eine praktische Bedeutung kommt dem nicht zu (die aus den geimpften Schweinen gezüchteten Rotlaufbacillen erwiesen sich als avirulent für Mäuse).

Auch bei der Rinderpestschutzimpfung spielt eine Propagation des Virus durch die Impfung keine Rolle. Da es sich hier um ein nicht züchtbares Virus handelt und bei der Dosierung des virulenten Pestblutes mit quantitativen und qualitativen Differenzen zu rechnen ist, so muß das zur Impfung verwendete Serum einer besonders sorgfältigen Auswertung vor der Anwendung unterzogen werden (s. unten).

Daß in anderen Fällen heute noch erhebliche Gefahren mit der Simultanmethode verbunden sind, betont z. B. Uhlenhuth, der sie für die Immunisierung gegen Schweineseuche verwirft. Es ist nicht nur damit zu rechnen, daß bei Verwendung virulenten Materials Impflinge zugrunde gehen oder erkranken und die Erreger propagieren, sondern daß sie auch, ohne daß sie Erkrankungserscheinungen aufweisen, zu Bacillenträgern werden können.

Im allgemeinen gilt bei der kombinierten Impfung der Satz, daß die Immunität eine um so stärkere und nachhaltigere ist, je stärker die durch das lebende Antigen gesetzte Reaktion ist, je mehr also der Körper selbst daran beteiligt ist, das ihm eingeführte Antigen unschädlich zu machen. Ueberläßt man die Abwehr dem injizierten Serum, sei es, daß man es in größerer Menge oder von hoher Wertigkeit verabreicht, so ist erfahrungsgemäß der Schutz ein geringerer. Experimentelle Belege hierfür sind zu finden bei Beinarowitsch, R. Pfeiffer & Friedberger, Prettner u. a.

Der weiteren Anwendung der kombiniert aktiv-passiven Methode steht auch im Wege, daß wir über die Wirkungsweise des passiv verabreichten Serums in vivo nicht genügend orientiert sind. Die Seren mit verschiedenem Antikörpergehalt verhalten sich dabei ganz verschieden: so werden bakteriolytische Seren bei gleichzeitiger Einfuhr mit dem Antigen anders wirken müssen wie bei vorzeitiger: in letzterem Falle ist in der Tat eine größere Dosis Serum zur Erzielung eines Schutzes nötig. Es gibt aber auch Seren, die sich umgekehrt verhalten: das von Weil & Braun durch Aggressinimmunisierung hergestellte Hühnercholeraserum wirkte besser bei vorzeitiger als gleichzeitiger Injektion auf Mäuse schützend, ähnliche Beobachtungen machte Kitt (s. Bd. V).

Die Schwierigkeiten bei der kombinierten Methode, die sich aus der Notwendigkeit ergeben, zwei Impfstoffe aufeinander einzustellen, sind aber auch ihr Vorteil: die Methode wird dadurch modulationsfähig. Da wir imstande sind, das Antigen auf die mannigfaltigste Art zu behandeln, ohne ihm seine Reaktionsfähigkeit zu nehmen; und da auch andererseits zu vermuten ist, daß die Antikörperproduktion noch in bestimmten Richtungen zu beeinflussen sein wird, so stehen der kombinierten Methode noch die verschiedensten Anwendungsweisen bevor.

Von Bedeutung ist die Möglichkeit, ausreichenden Schutz durch sie hervorzurufen, auch wenn nur abgeschwächtes Virus verimpft wird, wie das durch Sobernheim bei Milzbrand und von Kolle & Otto bei Pest (Meerschweinchen) mit Erfolg durchgeführt ist. In vielen Fällen wird es ja gar nicht einmal absolut nötig sein, schon durch diesen ersten Eingriff der kombinierten Impfung einen besonders hohen Grad der Resistenz zu erzeugen, sondern vielmehr darauf ankommen, die Organismen für weitere Impfungen vorzubereiten, so daß die kombinierte Methode zunächst nur zur Herbeiführung einer Grundimmunität ihre Dienste leistet. Das wird z. B. der Fall sein

zur Gewinnung hochwertiger Immunseren oder zur Immunisierung von Menschen und wertvollen Tieren, während man allgemein zur Impfung von Tieren heute mit einmaligen Impfungen auszukommen sucht, um die Kosten nicht zu erhöhen und das Verfahren nicht umständlich zu machen.

Der kombinierten Methode bedient man sich zur Erzeugung von Grundimmunität vor allem bei jenen Infektionskrankheiten, bei denen eine Grundimmunität sonst schwer zu erreichen ist, wie bei Milzbrand, wo die Verabreichung der toten Bakterien nichts nützt und die der lebenden Infektion zur Folge haben kann. Selbst wenn bei der kombinierten Impfung durch die einmalige Seruminjektion das verabreichte lebende Virus nicht genügend in Schach gehalten wird, so hat man es durch weitere Serumzufuhr (intravenös!) oft noch in der Hand, die Infektion abzuschneiden und Impfverlusten vorzubeugen.

Zu den genannten Variationen der kombinierten Schutzimpfung ist noch eine dritte hinzugekommen. Schon Koch hat versucht, Mischungen von Serum rinderpestimmuner Tiere mit virulentem Virus zum Zweck der Immunisierung einzuführen.

Leclainche hat 1900 die Lorenzsche Methode der Rotlaufschutzimpfung dahin abgeändert, daß er unmittelbar vor der Impfung Pferdeimmunserum mit lebender Rotlaufkultur vermischte und die Mischung subkutan injizierte. Die so herbeigeführte Grundimmunität steigerte er durch 12 Tage spätere Verimpfung lebender Kultur (ohne Serum).

Shiga hat dann zur Vermeidung der Infiltrate, die bei der Pestimmunisierung in der Subcutis nach Einspritzung der schwer resorbierbaren, bei 60° abgetöteten Pestbacillen auftraten, diesem Impfstoff Pestserum zugesetzt. Er erzielte damit in der Tat, daß die lokalen und allgemeinen Reaktionen bei den Impflingen wesentlich gemildert wurden und doch eine Grundimmunität auftrat, so daß die so vorbehandelten Menschen nun größere Dosen des Pestvaccins vertrugen. Das gleiche Verfahren hat Shiga später bei Ruhr versuchsweise angewandt.

Besredka[6] ging von dem Bestreben aus, für die Immunisierung bei Pest, Typhus, Cholera mit der Mischung von Immunserum + abgetöteten Bacillen die Serumquantität auf das notwendige Minimum zu beschränken, nachdem in Versuchen von Calmette & Salimbeni (zitiert bei Besredka), Mäuse mit Mischungen von Pestimmunserum + Pestbacillen zu immunisieren, die Herabminderung der Schutzdauer durch die Beigabe des Serums auf 7—8 Wochen gegenüber der durch Injektion der Bacillen allein erreichten Schutzdauer von 4—6 Monaten, zutage getreten war. Er versetzte die durch Hitze abgetöteten Bacillen mit Immunserum, wartete die Agglutination ab und wusch die Bacillen mit Kochsalzlösung. Diese „sensibilisierten“ Bakterien riefen bei subkutaner Verabreichung geringere Reaktionen hervor als die abgetöteten Bakterien allein, der Impfschutz trat z. B. bei Pest nach Besredka schon nach 2 Tagen ein und dauerte bei Tieren bis zu $5^1/_2$ Monaten. Vgl. S. 172.

Die Methode ist von A. Marie bei Lyssa und von Dopter bei Dysenterie gehandhabt worden: aus den Versuchen geht hervor, daß damit in der Tat der Impfstoff der toxischen Wirkung entkleidet ist. Bei Ruhr trat der Impfschutz in den Versuchen von Dopter[1] erst nach 4—5 Tagen ein, damit nähert sich in diesem Falle diese Schutz-

impfung mit sensibilisierten Bakterien der einfachen aktiven Immunisierung und entfernt sich von der passiven, deren Hauptwert in dem sofortigen Schutz gegeben ist.

Auch aus weiteren Versuchen der Immunisierung mit sensibilisierten Bakterien geht hervor, daß diese Methode erst noch auf breitere wissenschaftliche Basis gestellt werden muß; nicht nur für die einzelnen Bakterienarten liegen die Verhältnisse verschieden, sondern auch für die mit diesem Antigen gewonnenen Immunseren, aber damit nicht genug: die einzelnen Bakterienstämme mit ihrem verschiedenen Rezeptorenapparat, andererseits die Verschiedenheit der auch gegenüber einer Antigenart gewonnenen Immunseren bedingen es, daß bei der Vermischung Antigen—Serum nicht gleichartige Bindungen resultieren. Auch sprechen Erfahrungen Besredkas dafür, daß nach der Sensibilisierung das Antigen durchaus nicht — wie man sich vorzustellen pflegt — in unabänderlichem Zustande sich findet: ein zu häufiges Waschen mit Kochsalzlösung schädigte beispielsweise das Antigen, so daß auch für die gleichmäßige Herstellung des Impfstoffes bei dieser Abart der kombinierten Methode noch Schwierigkeiten bestehen.

In welcher Richtung weitere wissenschaftliche Unterlagen für die Immunisierung mit sensibilisierten Bakterien zu gewinnen sind, ergibt sich vor allem aus einer Reihe wichtiger Versuche R. Pfeiffers, der schon 1901 mit Friedberger[1] die immunisierende Fähigkeit der mit dem Choleraambozeptor beladenen Choleravibrionen nach intravenöser Einführung bei Kaninchen prüfte und dabei feststellte, daß bei Verwendung genügender Mengen Immunserum die Choleravibrionen ihre Fähigkeit, Bakteriolysine zu erzeugen, verlieren können. Neuerdings konstatierte er mit Bessau das gleiche für Typhusbacillen, die bei 58^0 abgetötet waren und mit Besredka-Serum sensibilisiert wurden (intravenöse Injektion von 1 Oese Bacillen + 1 ccm Serum, Kaninchen). Auch eine giftwidrige Wirkung des Serums der so vorbehandelten Kaninchen war nicht nachweisbar.

Als ein Vorteil der Anwendung sensibilisierter Bakterien ist es angesehen worden, daß die negative Phase in Wegfall kommt (z. B. in den Dysenterieversuchen von Dopter). Diese kommt zwar nach Versuchen von R. Pfeiffer & Friedberger[2], Haffkine, Wright u. a. ebenfalls nicht zur Beobachtung, wenn passende Dosen nicht sensibilisierter Bakterien verabreicht werden. Nach vergleichenden Versuchen von E. Levy & Aoki mit sensibilisierten und nicht sensibilisierten Pneumokokken ist aber doch das frühzeitigere Auftreten der Immunität nach Verabreichung des sensibilisierten Vaccins regelmäßig zu beobachten und die positive Phase auch kurze Zeit nach der Impfung ausgesprochener als bei den Tieren, die mit nicht sensibilisierten Kokken vorbehandelt wurden, so daß das sensibilisierte Vaccin den Vorzug verdient. Levy & Aoki betonen ausdrücklich, daß für den Erfolg die richtige Bestimmung der immunisierenden Dosen maßgebend sei.

Besitzt ein Serum starke lytische Eigenschaften, so kann bei der Injektion von Serum + Bakterien unter Umständen eine zu große Menge giftiger Zellbestandteile frei werden; das äußert sich namentlich bei intravenöser Injektion. Meerschweinchen sterben nach intravenöser Einspritzung von Meningokokken + Meningokokkenserum, Dopter[1,2,3], Briot & Dopter[1]. Diese Erscheinung wurde beobachtet

sowohl wenn Antigen und Antikörper gleichzeitig, als auch wenn zunächst Serum und 24 Stunden später die Kokken verabreicht wurden. Briot & Dopter zeigten aber, daß, wenn zunächst die Kokken, dann das Serum injiziert wurden, schwere Erscheinungen nicht eintraten (Schutz der Kokken durch Phagocytose?).

Bei der Beurteilung der zeitlich getrennten Kombinationsmethode, der Simultan- und Mischmethode ist noch zu berücksichtigen, ob es sich um völlig gesunde Impflinge in gesunder Umgebung, oder um Organismen handelt, die schon in der Inkubation begriffen oder gar erkrankt sind.

Erfahrungsgemäß können z. B. mit Rotlauf infizierte Schweine bei der Behandlung mit der Simultan- oder Mischmethode schwer erkranken. Es wird daher dann, wenn unter den Impflingen schon infizierte Tiere zu vermuten sind, die Lorenzsche Methode in der früheren Form am Platze sein, d. h. es ist zunächst Serum zu verabreichen und erst mehrere Tage später die Kultur.

Es ist darauf aufmerksam zu machen, daß bei Wiederholung von Simultanimpfungen anaphylaktische Erscheinungen sich einstellen können (s. Sobernheim[3]), es handelt sich dabei nicht um Bakterien-, sondern um Serumanaphylaxie. Vgl. auch S. 169.

Auch bei Behandlung mit sensibilisiertem Vaccin ist daran zu denken, daß gegenüber dem mitinjizierten Serum Anaphylaxie auftreten kann, das ist z. B. von Braun bei Behandlung von Meerschweinchen mit sensibilisierten Bakterien beobachtet worden; A. Marxer sah hingegen bei Kaninchen, die sensibilisierte Streptokokken erhielten, keine anaphylaktischen Symptome. Garbat & F. Meyer neigen sogar dazu anzunehmen, daß die Gefahr des Auftretens von Bakterienanaphylaxie durch die Sensibilisierung (Versuche bei Kaninchen mit Typhusbacillen) verringert werde.

I. Serovaccination.

a) Zeitlich getrennte Injektion von Serum und Vaccin.

Beispiele:

1. Die Lorenzsche Schutzimpfung gegen Schweinerotlauf.

Lorenz[1, 2] hat das Prinzip dieser Methode, wie erwähnt, zunächst an Kaninchen und Schweinen zum Zweck der Serumgewinnung angewandt.

Kaninchen erhielten pro 1 kg Körpergewicht 1 ccm Heilserum, 2 Tage später 0,3 ccm Rotlaufkultur; nach weiteren 12—14 Tagen nochmals 0,3 oder etwas mehr Kultur. Alle Injektionen subkutan. 10 Tage nach der letzten Impfung vertrugen die Tiere intravenöse Kulturinjektion.

Nachdem Lorenz[2] zur Gewinnung von Immunserum dann auch Schweine benutzt hatte, verwendete er später ebenso wie Leclainche, Voges & Schütz zur Immunisierung das Pferd, das intravenös große und steigende Dosen lebender Kultur erhält. Das Serum ist nach Lorenz für praktische Zwecke brauchbar, wenn es in der Menge von 0,015 ccm (subkutan) eine graue Hausmaus vor der gleichzeitigen subkutanen Infektion mit 0,01 ccm Rotlaufkultur (5—10 Tage lange Züchtung bei Zimmertemperatur in peptonfreier Bouillon) schützt.

LECLAINCHE, DEUTSCH, SCHNÜRER bevorzugen die Auswertung des Serums an Tauben (s. SCHNÜRER, JOEST). — Ueber die von MARX ausgearbeitete, im Frankfurter Institut für experimentelle Therapie übliche Prüfungsmethode s. OTTO.

Das Rotlaufdoppelserum vom Seruminstitut Landsberg ist eine Mischung von Pferde- und Rinderimmunserum, seine Ueberlegenheit, die sich vor allem bei Impfung infizierter oder noch nicht offensichtlich erkrankter Tiere (Notimpfung) äußern müßte, ist noch nicht sichergestellt, ebensowenig die der Tripelsera (Mischung von Pferde-, Rind- und Schweineimmunserum). Nach SCHNÜRER empfiehlt sich hingegen eine Mischung der verschiedenen (höher- und geringwertigen) Pferdeimmunseren vorzunehmen.

Eingehende Schilderung der Pferde- u. Rinderimmunisierung gibt SCHNÜRER.

a) Serumimpfung. Die Schweine erhalten pro 10 kg Körpergewicht subkutan 1 ccm Serum. (Näheres enthalten die Gebrauchsanweisungen für das Prenzlauer Serum, für das „Susserin" der Höchster Farbwerke etc.) Als Impfstelle eignet sich die Haut am Grunde der Ohrmuschel (oder Innenfläche der Schenkel).

b) Injektion der Kultur. Sie erfolgt 3—5 Tage nach der Serumimpfung. Die LORENZsche Kultur war eine für Mäuse schwachvirulente Rotlaufkultur, die diese Tiere erst nach einer Woche tötete, sie wurde von LORENZ auf peptonfreier, schwach alkalischer Bouillon bei 24—26° gezüchtet. Stärker mäusevirulent ist die von den Höchster Farbwerken gelieferte, sie tötet Mäuse bei Verdünnung 1:1000000 in ca. 3 Tagen.

Da es sich um lebende Kulturen handelt, so ist mit einer Abschwächung der Aktivität des Impfstoffes zu rechnen, im allgemeinen werden Kulturen, die älter als 4 Wochen sind, nicht mehr brauchbar sein, im einzelnen ist den Angaben der Prospekte zu folgen, z. B. auch hinsichtlich der Dosierung, die nach dem Körpergewicht bemessen wird (0,25—1 ccm).

Die Injektion der Kultur findet subkutan, an einer anderen Körperstelle als die Seruminjektion statt, z. B. an dem anderen Ohr.

Der so gesetzte Impfschutz dauert 5 Monate. Soll er erhöht werden, so wird nach LORENZ 12—15 Tage nach der ersten Kulturspritzung die doppelte Dosis Kultur injiziert, damit hält der Schutz 1 Jahr lang an. Man kann eine dritte Impfung vor Ablauf des Jahres folgen lassen (mit 1—2 ccm Kultur), um damit den Schutz auf ein weiteres Jahr auszudehnen.

Daß auch bei der LORENZschen Schutzimpfung genau auf ein bestimmtes Verhältnis zwischen Serummenge und Kulturdosis zu achten ist, geht aus Beobachtungen von PRETTNER hervor.

Gegenüber den Bestrebungen, zur Erzielung einer länger dauernden und stärkeren Immunität eine Impfkultur mit höherer Virulenz zu verwenden, weist J. SCHNÜRER darauf hin, daß bei Rotlauf damit doch ein hoher Prozentsatz Verluste durch die Impfung auftreten könne und auch die Propagationsgefahr gesteigert würde. Er hat daher empfohlen, wieder zu dem LORENZschen Verfahren der zweimaligen Kulturimpfung mit Kulturen geringerer Virulenz zurückzukehren. SCHNÜRER äußert auch den plausiblen Gedanken, nicht eine einheitliche Kultur zu verwenden, sondern bei den verschiedenen Epidemien je nach Charakter der in der Gegend auftretenden Seuche, ferner je nach Rasse und Alter der Impflinge entsprechend modifizierte Kulturen zu verimpfen.

Auch MEYER empfiehlt bei der LORENZschen Schutzimpfung gegen Rotlauf zwei Kulturimpfungen vorzunehmen.

2. Zu den Serovaccinationsverfahren dieser Gruppe ist auch das von LECLAINCHE & VALLÉE für die Rauschbrandimpfung empfohlene zu rechnen.

Soll in einem Bestande die Schutzimpfung nach dem Auftreten von Rauschbrand erfolgen, so empfehlen L. und V. zunächst eine Seruminjektion (10—20 ccm, je nach Größe des Tieres) mit Rauschbrandserum, wie es sonst zu Heilzwecken benutzt wird, vorzunehmen, nach 4—5 Tagen dann — jedenfalls vor dem 8. Tage, nachher ist die durch das Serum gegebene Schutzkraft erloschen — einen besonderen für einmalige Impfung berechneten Impfstoff, der abgeschwächte Reinkultur darstellt, zu verabreichen. Im übrigen empfehlen die Autoren einen Impfstoff, der in zweimaliger Impfung (Zwischenraum von 12 Tagen) angewendet werden soll und ebenfalls aus abgeschwächter Reinkultur

besteht. Als Impfstelle wird vor allem die Mitte der Oberfläche des Ohres empfohlen, diese Stelle ist leichter zu desinfizieren als der Schwanz.

Nach KITT (s. Bd. IV) genügen zur Immunisierung eines Rindes 15 bis 20 ccm Immunserum (von dem 1 ccm die Virusdosis 0,5 neutralisieren muß), zur Nachimpfung 0,5 ccm Virus. ARLOING verwendet zur Nachimpfung zwei Reinkulturen, die in verschiedenem Grade abgeschwächt sind, es sind dann von dem Serum geringere Mengen ausreichend.

3. BOXMAYER (zitiert nach UHLENHUTH) gab zur Immunisierung gegen Schweinepest ausgewachsenen Schweinen 20 ccm Immunserum subkutan und 2 Tage später 1,5 ccm virulentes Glyzerinblut (1:2), die Tiere erkrankten leicht, vertrugen dann 3 Wochen später 5 ccm, und späterhin bei zwei Nachimpfungen je 100 ccm virulentes Blut. Weitere Versuche, bei denen 10 ccm Immunserum und 1,5 ccm Glyzerinblut wie oben verabreicht wurden, deuten auch auf Immunität gegen natürliche Infektion hin, doch sind die Versuche zu wenig zahlreich.

4. BORDET & DANYSZ (zitiert nach KOLLE[2]) impften bei Rinderpest Rinder mit großen Dosen defibrinierten Immunblutes (100 ccm) und überließen sie dann der natürlichen Infektion durch Zusammenbringen mit pestkranken Tieren oder sie strichen den vorbehandelten Tieren virulentes Material (Nasenschleim, Darminhalt kranker Tiere) auf Maul- und Nasenschleimhaut auf. Diese Methode (French method) ist unsicher, sie hat auch zur Verbreitung von Blutinfektionskrankheiten (Texasfieber, Trypanosomiasis usf.) beigetragen.

b) Simultanmethode (gleichzeitige, örtlich getrennte Injektion).

Die Methode unterscheidet sich darin von der vorgenannten, daß Impfung mit Immunserum und Parasitenantigen zu gleicher Zeit, aber an verschiedenen Stellen erfolgt.

Beispiele:

1. LORENZsche Methode. Handhabung und Dosierung ist im übrigen die gleiche wie oben.

2. Milzbrandschutzimpfung nach SOBERNHEIM.

Hochwirksames Milzbrandserum und abgeschwächte Milzbrandkultur werden gleichzeitig aber an verschiedenen Hautstellen injiziert.

α) Serumgewinnung. Sie erfolgt bei Rindern, Pferden oder Schafen. Grundimmunisierung: simultan oder nach PASTEUR. 10—14 Tage später $^1/_{200}$—$^1/_{1000}$ Oese virulenter Kultur; in Zwischenräumen von 2—3 Wochen Impfung mit steigenden Dosen der virulenten Bacillen (1 Oese, mehrere Oesen, ganze Agarkultur, schließlich mehrere Kolleschalen). Bei Immunisierung von Schafen hat man mit Verlusten zu rechnen. Alle Impfungen geschehen subkutan. Die Milzbrandstämme sollen frisch von Septikämien gezüchtet sein, es empfiehlt sich, mehrere Stämme zu verwenden. — Das Serum ist praktisch meist schon brauchbar, wenn die Tiere $^1/_2$—1 Massenkultur erhielten. Die Blutentnahme erfolgt 14—16 Tage nach der letzten Impfung. Das mit 0,5 Proz. Karbolsäure versetzte Serum ist jahrelang haltbar. (Fabrik von E. MERCK, Filiale Halle a. S.)

Zur Prüfung des Serums injiziert SOBERNHEIM 5 Kaninchen intravenös 2, 3, 4, 5 und 6 ccm Serum; 5—10 Minuten später subkutan $^1/_{1000}$ Oese virulente Kultur. Ein 6. Tier erhält nur Bacillen. Falls von den vorbehandelten Tieren mindestens 2 leben bleiben und die übrigen später als das Kontrolltier eingehen, ist das Serum brauchbar.

β) Die Kultur ist nach dem PASTEURschen Prinzip durch Kultivierung bei 42—43° abgeschwächt und entspricht dem Vaccin II PASTEURS. Von der Stammkultur werden Agarkulturen 1 Tag bei 37°, dann noch 2 Tage bei Zimmertemperatur gehalten, 1 Oese Kultur wird verteilt in 50 ccm Kochsalzlösung (stärkere Konzentration für Rinder und Pferde) oder in 100 ccm (schwächere Konzentration für Schafe). Diese Bakteriensuspensionen sind im Kühlen und Dunklen wochenlang haltbar (im Gegensatz zu Bouillonkulturen).

Dosierung:	Rinder 5 ccm Serum	0,5	ccm	Bacillenemulsion (s. o.)
	Kälber 5 „ „	0,3—0,5	„	„ „
	Pferde 5 „ „	0,5	„	„ „
	Schafe 4 „ „	0,25	„	„ „

Injektionsstellen: bei Rindern und Pferden die beiden Halsseiten, bei Schafen die Innenflächen der Hinterschenkel.

Die Reaktionen sind minimal oder fehlen ganz, bei Schafen wird meist geringe Temperatursteigerung einige Tage lang beobachtet.

Der Impfschutz dauert ca. 1 Jahr, Impfverluste nur 0,1 Prom. Da neuerdings namentlich bei Verwendung von Mischseren (Pferde-, Rinder- und Schafserum) anaphylaktische Erscheinungen auch bei der kombinierten Methode beobachtet worden sind, so ist zu empfehlen, lediglich homologes Serum in Anwendung zu bringen oder aber, wie Alexandrescu & Ciuca es taten, der eigentlichen Serovaccination eine Injektion von 1 ccm Serum subkutan vorauszuschicken, nach mehreren Stunden (5) dann Serum + Kultur zu injizieren (Antianaphylaxie): Diese Vorsichtsmaßregel kommt in Betracht, wenn die Tiere vorher schon serovacciniert waren.

3. Rinderpestimmunisierung nach Kolle-Turner.

Die Tiere erhalten an einer Körperstelle subkutan 0,5—1 ccm virulentes Blut, an einer anderen Körperstelle gleichzeitig und gleichfalls subkutan 10—30 ccm Immunserum.

α) Serumgewinnung. Sie geschieht bei Rindern. Die Grundimmunität wird durch Simultanimpfung erzeugt (1 ccm infektiöses Blut, gleichzeitig an anderer Stelle eine bestimmte Dosis Serum). Wenn die hierdurch bedingte Rinderpesterkrankung zurückgegangen ist, erhalten die Tiere 100 ccm virulenten Blutes, nach Rückgang der Fieberreaktion 200 ccm, dann nach jedesmaligem Abwarten des Ablaufs der Reaktion 300—500 ccm, Wenn das Tier 1000 ccm erhalten und gut vertragen hat, wird Ader gelassen (an drei aufeinander folgenden Tagen je einmal 4500 ccm), danach Injektion großer Dosen virulenten Blutes usw.

Modifikationen des Verfahrens s. Kolle [2], [3].

Zur Wertbestimmung werden 10—12 gleich schwere Tiere mit je 1 ccm virulenten Blutes gespritzt, gleichzeitig erhalten

Gruppe I.	3 Tiere	Dosen des Serums entsprechend	15 ccm	für je 300 kg leb. Gewicht.
„ II.	3 „	„ „ „ „	20 „	„ „ 300 „ „ „
„ III.	3 „	„ „ „ „	25 „	„ „ 300 „ „ „
„ IV.	3 „	„ „ „ „	30 „	„ „ 300 „ „ „

Als Serumtiter wird diejenige Dosis bezeichnet, welche den tödlichen Ausgang der Pestblutinfektion hindert, aber doch noch eine deutliche Reaktion bei mindestens 2 Tieren der Gruppe zuläßt. Beispiel: Die Tiere der Gruppe IV bleiben gesund, die der Gruppe III erkranken leicht, aber genesen; die Tiere der Gruppe II erkranken schwer, aber genesen, von Gruppe I sterben alle oder 2. Dann ist der Serumtiter 20 ccm.

β) Lebendes Virus. Virulentes Blut wird dadurch vorrätig gehalten, daß gesunde Rinder mit $^1/_{10}$—$^1/_{20}$ ccm Blut eines rinderpestkranken Tieres infiziert werden, noch empfehlenswerter ist die Ueberimpfung auf das Schaf, das keine sonstigen rindervirulenten Blutparasiten führt. Die Tiere liefern am 3. Tage nach Fieberbeginn ein brauchbares Blut, das entweder defibriniert oder zur Verhütung der Gerinnung mit 1 Proz. Natriumcitrat versetzt wird, innerhalb eines Tages beeinflußt dieser Zusatz das Virus nicht.

Nach Kolle & Turner ist die gleichzeitige Einspritzung von Serum und Virus (an verschiedenen Stellen) die sicherste Methode, bei der nur 1—2 Proz. Verluste zu erwarten sind, die zweizeitige Methode (Serum vor- oder nachher) ist nicht zu empfehlen.

4. Dorset, Mc Bryde & Niles haben 1905 und 1906 Schweine nach der Simultanmethode gegen Schweinepest immunisiert, sie gaben 2,5—20 ccm

Immunserum und gleichzeitig an einer anderen Körperstelle ebenfalls subkutan 0,25—5,0 ccm virulenten Blutes. Der Schutz dauerte $3^1/_2$ Monate. Der Impfverlust betrug 9 Proz. Weitere Simultanversuche führte BOXMEYER (s. UHLENHUTH) mit unsicherem Erfolge aus, ebenso UHLENHUTH-HÜBENER-XYLANDER-BOHTZ, die einen geringen Ueberschuß von Virus für nötig halten, der eine leichte Erkrankung herbeiführen muß, damit Immunität eintritt. HUTYRA & WETZL hatten mit der Simultanmethode ebenfalls nicht so günstige Resultate wie die Amerikaner, sie vermuten, daß die Pestblutdosis von ihnen zu hoch gewählt worden ist (2 ccm), sie hatten 25 Proz. Verluste (Serumdosis 5 und 10 ccm).

5. Zur Immunisierung von Maultieren gegen afrikanische Pferdesterbe injiziert THEILER (zit. nach LEIPZIGER) 300—350 ccm Immunserum und 1—2 ccm Virus subkutan. 4—5 Tage später erfolgt bei großen Tieren eine 2. Seruminjektion von 50—100 ccm. Impfverlust = 3,8 Proz. RICKMANN injizierte 0,01 ccm Virus subkutan und 2—3 Tage später 175—200 ccm Immunserum (Inkubationsimpfung). 12—14 Tage später injizierte er 1 ccm Virus subkutan oder intravenös. Mit denselben Virus- und Serumdosen gelang ihm auch die Simultanimmunisierung.

LEIPZIGER sah sich genötigt, die Virusdosis zu erhöhen, er empfiehlt 1 ccm Virus subkutan, gleichzeitig und an anderen Stellen 300 ccm hochwertigen Immunserums. Nachimpfung in der 3. Woche nach der Simultanimpfung mit 20 ccm Virus intravenös. Impfverluste 3,5 Proz.

Die Immunisierung der Pferde ist wegen der höheren Empfänglichkeit schwieriger. LEIPZIGER gibt simultan 400 ccm Immunserum und an anderer Stelle 0,1 ccm Virus subkutan. 3 Wochen später 200—100 ccm Immunserum und 0,3 Virus subkutan. Alsdann in täglichen Abständen zunächst in absteigender — bis 0,01 — dann aufsteigender Reihenfolge Virusdosen, bis eine Reaktion eintritt. Geht man zu intravenösen Injektionen über, so sind größere Abstände zwischen den einzelnen Injektionen nötig. L. konnte bis zu 20 ccm Virus intravenös ohne Verlust verimpfen. Als Virus wird das Blut kranker Tiere benutzt, nach R. KOCH wird das defibrinierte Blut mit gleichen Teilen Glyzerin und destillierten Wassers, das 1 Prom. Karbolsäure enthält, zur Konservierung versetzt. LEIPZIGER verwendet Serum der kranken Tiere (gewonnen nach 12-stündigem Sedimentieren des defibrinierten Blutes), das in gleicher Weise konserviert wird, aber nicht die bei der Injektion von defibriniertem Blut häufigen Infiltrate in der Unterhaut hervorruft. Der Impfstoff wirkt in der Dosis 0,01 ccm tödlich für Pferde.

c) Serovaccination, Mischimpfung (Mischung von Serum und Vaccin).

1. Pest.

SHIGAS Methode zur Pestimmunisierung.

Der Belag von dreitägigen Agarstrichkulturen (30°) wird abgehoben, in Reibschale verrührt und mit Kochsalzlösung versetzt (1 ccm auf 1 Oese Kultur), die Suspension wird $^1/_2$ Stunde auf 60° erhitzt, mit 0,5 Proz. Karbolsäure versehen und erst nach 24 Stunden langem Stehen benutzt.

Immunisierung von Menschen (subkutan):

Vaccin und Pestimmunserum zu gleichen Teilen, je 0,6—1 ccm.

Es tritt leichte Lokal- und Allgemeinreaktion auf, sind diese zurückgegangen, so wird Vaccin allein (ohne Serum) in der Dosis 0,6—1 ccm injiziert. SHIGA empfiehlt bei Pestepidemien die Dosis zu steigern und eine dritte Impfung folgen zu lassen.

Bei der Pestimmunisierung von Mäusen hatten KOLLE & OTTO ungünstigere Ergebnisse, wenn sie Serum + Vaccin verabreichten (subkutan), als wenn sie Vaccin allein impften: die abgeschwächten Bacillen des Vaccins kamen, wie die Autoren ausführen, durch das bakterizide Pestserum zur Abtötung.

2. Bei Ruhr versuchte SHIGA eine der genannten Pestimmunisierung ähnliche Methode: da hier die Injektion abgetöteter Bacillen schwere Reaktionen herbeiführt, so vermischte er die abgetöteten (zerriebenen) Bacillen mit Ruhrserum, diese Mischung wurde in der Tat besser vertragen. Meerschweinchen überstanden nach einmaliger Behandlung mit diesem Impfstoff die dreifach tödliche Dysenteriebacillendosis, der Schutz hielt 3 Wochen an. Menschen erhielten hochwertiges Immunserum 0,5 ccm + 0,5 ccm vorsichtig abgetöteter (zerriebener, die näheren Angaben fehlen) Dysenteriebacillen (entsprechend etwa $^1/_2$ Oese einer eintägigen Agarkultur). Subkutan, Rückenhaut. Nach 3—4 Tagen nochmalige Impfung mit der doppelten Menge Vaccin (ohne Serum). Von Antikörpern ließen sich Agglutinine im Serum der Geimpften nachweisen (1:300); wenn auch eine absolute Immunität dadurch nicht erreicht wird, so soll doch die Mortalität bei den Geimpften eine niedrigere sein. Der Schutz ist nur kurzdauernd („einige Wochen").

Hier ist auch ein Versuch von ROSENTHAL anzureihen, der bei einem Menschen eine Mischung von Dysenterieserum mit Dysenterieagarkultur und 3 Tage später 1 Oese abgetöteter Kultur (ohne Serum) injizierte, der Agglutinationstiter stieg damit von 1:40 auf 1:300.

3. Tuberkulose.

Ueber Serovaccination gegen Rindertuberkulose s. CALMETTE & GUÉRIN[3, 4]. (Intravenös: Rindertuberkelbacillen, die auf Galle gezüchtet wurden, s. S. 22, + Serum von Rindern, die mit ebensolchen Bacillen intravenös vorbehandelt waren.) Bei dieser Behandlung soll eine rasche Resorption der Tb. erfolgen, die Agglutininbildung ist eine starke, die Tiere vertragen schließlich auch sehr virulente Rindertuberkelbacillen (intravenös), die in 3—4 Monaten vollkommen resorbiert werden.

4. Rotlauf.

Die Methode von LECLAINCHE[1, 2] zur Schutzimpfung von Schweinen gegen Rotlauf geht zur Erzeugung der Grundimmunität aus von einer unmittelbar vor der Impfung hergestellten Mischung von Rotlaufimmunserum (gewonnen vom Pferd) mit 0,5 ccm lebender Rotlaufkultur. Die Serummenge ist nach dem Körpergewicht zu variieren: 5 ccm Serum ist die Dosis für Tiere mit weniger als 50 kg Gewicht, die schwereren erhalten 10 ccm. 12 Tage später folgt eine Injektion nur von Kultur (0,5 ccm). Alle Injektionen geschehen subkutan. Der Impfschutz dauert nach LECLAINCHE 1 Jahr. Die Methode darf nicht bei erkrankten oder der Erkrankung verdächtigen Tieren angewandt werden, bei letzteren ist die zeitlich getrennte Behandlung zunächst mit Serum, dann (10 Tage später) mit Kultur zu wählen.

5. Rauschbrand.

Nach LECLAINCHE-VALLÉE, ARLOING u. a. hinterließ die Einspritzung von Rauschbrandserum + Fleischsaft (Melangeimpfung) keine Immunität.

6. Poliomyelitis. Nach Impfung von Affen mit Poliomyelitisvirus + Immunserum (gewonnen vom Affen) sahen FLEXNER und LEWIS bei intracerebraler Reinjektion (nach mehreren Wochen bis 4—5 Monate) keine Wirkung. (Verhinderung der Vermehrung des Virus?)

7. Ueber Lyssa-Immunisierung von Hammeln mit Virus-Serumgemischen zur Serumgewinnung, sowie über die aktive Immunisierung von Menschen und Hunden auf die gleiche Weise zur Verhütung der Tollwut s. A. MARIE. Vgl. hierzu auch FERMI[2], sowie dessen Immunisierung von Mäusen mit Lyssaserumvirus[1].

d) Immunisierung mit sensibilisiertem Vaccin.

1. Pest.

Besredka[6] nimmt 2-tägige Pestagarkulturen, suspendiert den Belag in Kochsalzlösung, tötet 1 Stunde lang bei 60° ab. Die visköse Aufschwemmung wird alsdann in ein zylindrisches Glas mit agglutinierendem Pestserum übergegossen. Nach beendeter Agglutination (12 Stunden) wird abgegossen und der Bodensatz mehrmals mit Kochsalzlösung gewaschen. Eine zu lange Berührung der Bacillen mit der Kochsalzlösung schädigt das Antigen. Die Sensibilisierung und Waschung muß innerhalb eines Tages beendet sein. Das so präparierte Vaccin verträgt $^1/_2$—1-stündiges Erhitzen auf 56° schadlos.

Der Besredkasche Pestimpfstoff erwies sich frei von toxischen Wirkungen, Mäuse zeigten nach subkutaner Einführung von Vaccin, das den Belag von 2 Agarkulturen enthielt, keine Krankheitserscheinungen. Beim Menschen rief die subkutane Injektion einer Vaccindosis, welche der doppelten Menge des Haffkineschen Impfstoffs entsprach, nur minimale Erscheinungen hervor. Der Eintritt der Immunität erfolgte bei Mäusen schon 2 Tage nach der Impfung, diese Tiere zeigten keine negative Phase (wie die von Calmette & Salimbeni mit dem Haffkineschen Impfstoff immunisierten Mäuse), sondern wiesen schon 6, 12 etc. Stunden nach der Injektion des Impfstoffes erhöhte Resistenz gegen die tödliche Dosis auf. Bei Mäusen hielt die Immunität bis zu $5^1/_2$ Monaten an, bei Meerschweinchen ungefähr 1 Monat.

2. Typhus, Cholera.

Aehnliche sensibilisierte Impfstoffe stellte Besredka von Typhus- und Cholerabakterien her mit dem Unterschiede, daß die spezifischen Sera vor dem Erwärmen zugesetzt wurden: nach beendeter Agglutination und Waschen wurden die sensibilisierten Bakterien 1 Stunde auf 56° erwärmt. Auch diese Impfstoffe riefen subkutan keine toxischen Erscheinungen hervor, bei Meerschweinchen trat schon nach 24 Stunden Schutz gegen die tödliche intraperitoneale Dosis auf, wenn die Tiere subkutan Impfstoff, der einer Kultur entsprach, erhalten hatten. Die Immunität soll 5 Monate währen.

Mit sensibilisierten Typhusbacillen immunisierten Garbat & F. Meyer Kaninchen.

Virulente Typhusbacillen auf Kolleschalen 1 Tag bei 37° gezüchtet, wurden mit NaCl-Lösung abgeschwemmt, an 2 aufeinanderfolgenden Tagen 2 Stunden lang bei 60° abgetötet, danach mit Typhusimmunserum im Ueberschuß (nähere Angaben fehlen) versetzt und unter Toluol 1 Tag im Brutschrank gehalten. Die agglutinierten Bacillen wurden mehrmals gewaschen (mit NaCl-Lösung), und intravenös injiziert (I. Gruppe). Zum Vergleich dienten Kaninchen, die mit nicht sensibilisierten, die gleiche Zeit auf 60° erhitzten und unter Toluol 1 Tag im Brutschrank aufbewahrten Bacillen behandelt wurden (II. Gruppe). Die letzteren Tiere vertrugen die Injektionen schlechter. Die gewonnenen Seren unterschieden sich dadurch, daß die der I. Gruppe nur niedrige Agglutinations- und Komplementbindungstiter hatten, die der II. Gruppe wiesen die bekannte Erhöhung dieser Titer auf. Dafür verhielt sich das Serum der I. Gruppe bakteriotrop und zeigte im Mäuse- und Meerschweinchenversuch eine gewisse kurative Wirkung, noch günstiger wirkte die Mischung beider Seren. (Die Vorstellungen der Autoren über die toxischen Eigenschaften ihrer Antigene bedürfen einer Korrektur Die beiden Antigene sind insofern nicht vergleichbar, als die nichtsensibilisierten Typhusbacillen nicht gewaschen worden sind, erfahrungsgemäß entgiftet das Waschen, s. R. Pfeiffer und Bessau, sowie Besredka[2].)

3. Ruhr.

Durch Vorbehandlung mit sensibilisierten Dysenteriebacillen konnte DOPTER[1] weiße Mäuse gegen die subkutane Injektion tödlicher Dysenteriebacillen schützen: 0,005 g abgetötete, getrocknete Bacillen wurden mit 2 ccm agglutinierenden Dysenterieserums verrieben, sedimentiert, Bodensatz durch Zentrifugieren gewaschen und in 2 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt. 0,2 ccm dieses Vaccins = 0,0005 sensibilisierter Bacillen subkutan auf Mäuse. Die Immunität setzte am 4.—5. Tag ein und währte $4^1/_2$ Monate. Keine negative Phase.

Die Versuche LÜDKEs, Kaninchen mit sensibilisierten Dysenteriebacillen (Methode BESREDKA: 2 Tage alte Kultur, NaCl-Suspension, 1 Stunde bei 60°, Zusatz von stark agglutinierendem Kaninchenserum, nach 10 Stunden Waschen des Niederschlags) zu immunisieren, verliefen ergebnislos (keine Erhöhung des bakteriziden und Agglutinationstiters).

4. Schutzimpfung gegen Puerperalfieber (E. LEVY & HAMM).

Herstellung des Impfstoffes. Puerperalfieber-Streptokokken wurden auf Ascitesglyzerinbouillon 1 Tag (37°) gezüchtet, zentrifugiert. Der Bodensatz wurde mit einem Gemisch von 2,5 ccm ARONSONschem und 2,5 ccm Höchster Streptokokkenserum versetzt, geschüttelt und 3 Stunden bei 37° gehalten. Danach vorsichtiger Zusatz von Karbollösung im Verhältnis von 0,5 Proz., nach 2 Stunden bei 37° trat sichere Abtötung der Streptokokken ein. Sodann scharfes Zentrifugieren, mehrmaliges Waschen mit Kochsalzlösung, schließlich Aufschwemmung der sensibilisierten Kokken in 10 ccm Kochsalzlösung. 1 ccm enthielt = ca. 50 Millionen Kokken. L. & H. stellten auch Eigenvaccins her, wenn die Schwangeren in ihrer Scheide Streptokokken aufwiesen. —

Injektion bei Schwangeren 8—10 Tage vor dem Geburtstermin (1 ccm subkutan). Erscheinungen: Druckempfindlichkeit an der Impfstelle. Kein Fieber. — An derselben Stelle berichten L. & H. auch über therapeutische Anwendung der sensibilisierten Streptokokken bei Puerperalfieber: 1. Impfung 0,5—1 ccm eines vorrätigen hochpathogenen puerperalen sensibilisierten Fremdstammes, zwei Tage später Impfung mit dem aus dem Falle isolierten Eigenstamm. Bei Fortdauer des Fiebers alle 2 Tage — nicht über den 10. Tag hinaus! — Eigenvaccin unter Umständen in größeren Dosen. Die Impfung hatte keine Schädigung zur Folge, ein Urteil über den therapeutischen Effekt steht noch aus.

Weitere Versuche mit sensibilisierten Streptokokken stellte A. MARXER[4] an, der Mäusen subkutan 2—8 mg Vaccin (Drusestreptokokken, menschliche Streptokokken), sensibilisiert mit Pferdeimmunserum, und nach ein oder mehreren Tagen intraperitoneal tödliche Streptokokken (zumeist Drusestämme) injizierte. Die Mäuse zeigten keinen Schutz. Hingegen erwiesen sich mit 20 mg sensibilisierten Streptokokkenvaccins (Mäusepassagestamm menschlicher Herkunft) subkutan vorbehandelte Kaninchen immun gegen die 1—9 Tage später subkutan verabreichte tödliche Drusestreptokokkendosis. Anaphylaktische Symptome sah MARXER nicht. Vergleich mit der immunisierenden Wirkung der durch Hitze (65—70°) oder Galaktose abgetöteten Streptokokken siehe S. 61.

5. Schutzimfung gegen Pneumokokken (LEVY & AOKI).

50 ccm einer 48-stündigen Eierbouillonkultur werden 2 Stunden lang zentrifugiert, die obere Schicht wird vorsichtig dekantiert, zum Bodensatz Zugabe von 3 ccm Pneumokokken-Immunserum MERCK. (1 ccm Serum = 20 bis 40 Immunitätseinheiten.) Umschütteln. Die Kokken läßt man 3 Stunden mit dem Immunserum im Brutschrank (37°) in Berührung. Danach zentrifugieren, Abgießen des überstehenden Serums, zweimaliges Waschen und Zentrifugieren der Kokken mit physiologischer Kochsalzlösung zur Befreiung von überschüssigem Immunserum. Die gewaschenen und sensibilisierten Pneumokokken werden dann in 10 ccm physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt, mit 1,1 ccm 5-proz. Karbolsäurelösung versetzt (also Verhältnis 0,5 Proz.) und 10—12 Stunden bei 37° gehalten. Als geeignete Dosis zum Immunisieren von Kaninchen (2000—2500 g) erwiesen sich 8 ccm des Präparates (subkutan). (Die Dosis für nicht sensibilisierte Pneumokokken [Zentrifugat, mit 0,5 Proz. Karbolsäure] betrug 6 ccm.)

Nach Verabreichung der sensibilisierten Pneumokokken war die völlige Immunität schon am 3. Tage eingetreten (bei nicht sensibilisierten Pneumokokken erst am 6. Tage).

Es ließ sich zeigen, daß bei richtiger Bestimmung der immunisierenden Dosen innerhalb der Zeit, während welcher die Immunität zustande kommt, eine Resistenzerhöhung eintrat, eine negative Phase konnte nicht beobachtet werden. Die Resistenzerhöhung war besonders ausgesprochen bei der Vorbehandlung mit den sensibilisierten Pneumokokken, und da bei dieser Methode auch die völlige Immunität früher eintritt, so ist sie der Methode der Immunisierung mit nicht sensibilisierten Pneumokokken überlegen.

Von Interesse ist, daß Kaninchen, die subkutan gleichzeitig 6—10 ccm sensibilisierte Pneumokokken und an einer anderen Stelle die 10-fach tödliche Dosis lebender Kultur erhielten, am Leben blieben. Bei zu großer Dosis sensibilisierter Kokken und gleichzeitiger Injektion lebender tödlicher Mengen (intraperitoneal) trat kein Schutz, sondern der Tod ein.

6. Sensibilisierte Tuberkelbacillen.

Tuberkulose-Sero-Vaccin Höchst. S.B.E. Vgl. F. Meyer, ferner Ruppel. In Vorversuchen wird der Gehalt eines Tuberkulose-Immunserums an Agglutininen, komplementbindender Substanz, Opsoninen bestimmt, es wird z. B. 1 g zerriebener Tb. mit 500 ccm Kochsalzlösung emulgiert, 1 ccm = 0,002 g Tb. Wird diese Menge durch 0,0025 ccm Serum (= 1:800) agglutiniert, so werden zur Herstellung des Serovaccins entsprechende Mengen von Tb. und Immunserum, letzteres in einem geringen Ueberschuß, verwendet.

Die Mischungen von Immunserum und scharf getrockneten Tb. (Typ. hum., eventl. auch Typ. bov.) bleiben 1—2 Tage im Brutschrank bei 37,5°. Darauf erfolgt Schüttelung mit Glasperlen im Schüttelapparat, bis intakte Tb. nicht mehr nachweisbar sind. Scharfes Zentrifugieren, Waschen des Bodensatzes mit physiologischer Kochsalzlösung, Verarbeiten mit 40-proz. Glyzerinwasser, das 0,5 Proz. Karbolsäure zugesetzt erhält, zu feiner Emulsion. 1 ccm = 5 mg Bacillensubstanz. Verdünnungen werden mit physiologischer, 0,5 Proz. karbolhaltiger Kochsalzlösung hergestellt.

(Patentschrift Nr. 231055, Klasse 30h, Gruppe 6 vom 23. Juli 1909, Höchster Farbwerke; ferner Zusatz hierzu: Nr. 231056 vom 16. April 1910.) Der Zusatz zu dem Patent betrifft die Sensibilisierung von Tuberkulin und anderen Tb.-Extrakten. Anwendungsweise und Ergebnisse siehe Bd. V.

II. Serotoxinimpfung.

So wie man bei der aktiven Immunisierung mit Bakterienzellmaterial die auftretenden lokalen Erscheinungen (Infiltrate etc.) durch Beigabe von Serum einzuschränken suchte, so sind auch die Einwirkungen von Giftlösungen durch Beimischung von antitoxinhaltigem Serum abgeschwächt oder beseitigt worden.

Mischungen von Toxin und Antitoxin (Diphtherie) sind zum Zweck der Immunisierung zum ersten Male von Babes[1] injiziert worden: er konnte so Meerschweinchen gegen Diphtherietoxin immunisieren, und zwar ebenso sicher, aber rascher als durch Vorbehandlung mit Toxin allein. Er regte schon 1895 an, eine Simultanbehandlung bei Lyssa zu versuchen: Injektion von Virus kombiniert mit Serum immunisierter Tiere.

Pawlowsky & Maksutow haben dann, um mit den von Behring und Roux zur Diphtherieheilserumgewinnung angegebenen Methoden rascher zum Ziele zu kommen, die Pferde zunächst mit Antitoxin (subkutan) vorbehandelt, nach 2—3 Tagen dann Gift in größeren und rasch ansteigenden Dosen eingeführt. Auch während der Immunisierungsperiode injizierten sie einigemale Antitoxin, wenn Anzeichen dafür vorhanden waren, daß das Toxin schlecht vertragen wurde (bei größeren Dosen, bei schlecht ernährtem Organismus).

Auch Nikanorow berichtet über günstige Antitoxinausbeute nach Vorbehandlung einer Ziege mit Diphtherietoxin und Antitoxin (gleichzeitig, aber an verschiedenen Stellen) sowie von Pferden, von denen

das eine Tier längere Zeit mit Antitoxin vorbehandelt wurde und erst dann Toxin erhielt.

Kretz hat 1901 ebenfalls Pferde mit Antitoxin vorbehandelt, zweizeitige Methode: 12—15 Stunden später Toxin eingeführt und bei anderen Pferden Mischung von Toxin und Antitoxin (Zimmertemperatur, 18 Stunden) intravenös und subkutan verabreicht. Da für jeden Versuch nur ein Tier verwendet wurde, so konnte der Vergleich bindende Resultate nicht geben (Kretz fand den höchsten Antitoxinwert bei dem mit Serum vorbehandelten und mit Toxin subkutan nachbehandelten Tiere), die mit den Mischungen behandelten Tiere lieferten ein Serum geringeren Wertes.

Nach weiteren Versuchen von Arloing, Nicolas & Antoine, sowie von Arloing & Nicolas ergab die Einfuhr von Toxin-Antitoxinmischungen nur niedrige Antitoxinwerte (Versuchstiere Hunde und Esel), höhere erhielten sie durch Injektion beider Körper getrennt an verschiedenen Stellen, den höchsten Wert durch alleinige Toxininjektion. Hier reihen sich die Versuche von Dreyer & Madsen an, die Pferde, Ziegen und Kaninchen mit nicht ganz neutralisierten Mischungen von Diphtheriegift und Antitoxin zum Zweck der Antitoxingewinnung behandelten.

Dzierzgowski[3] konnte mit neutralen Diphtherietoxin-Antitoxingemischen bei Hunden, Ziegen, Pferden keine Antitoxinbildung veranlassen. Eingehender ist dann die Frage von Atkinson und vor allem von Theobald Smith[2—5] bearbeitet worden, der erstere immunisierte Pferde mit überneutralisierten Toxin-Antitoxinmischungen. Smith stellte nach Injektion neutraler Mischungen bei weiblichen Meerschweinchen die Vererbung der mehrere Jahre anhaltenden Immunität auf die Nachkommen fest. In den Versuchen von Th. Smith & Brown trat nach der subkutanen Injektion von Diphtherietoxin-Antitoxinmischung bei Meerschweinchen eine raschere und stärkere Immunität ein als nach Verabreichung von Toxin allein.

Vgl. auch Martin, Prevot & Loiseau.

Mc Clintock & Ferry erhielten nach Vorbehandlung von Pferden mit Diphtherietoxin-Antitoxinmischungen (überneutralisiert, 10 Injektionen bei 32-tägiger Behandlungsdauer) ein gut wirksames Antitoxin. Die Pferde vertrugen die Injektionen besser als die reinen Toxininjektionen oder die zweizeitige Behandlung (erst Antitoxin, dann Toxin). Der Serumtiter blieb auf der erreichten Höhe, wenn in der Folge zweimal wöchentlich weitere Mischungen verabreicht wurden.

Die Immunisierung mit überneutralisierten Mischungen ergab auch gute Resultate, wenn die Injektionen nicht sofort, sondern erst 6 Stunden nach der Mischung erfolgten (Mc Clintock).

Für die Tetanusgiftimmunisierung hat Knorr gezeigt, daß die sogenannten unausgeglichenen Giftreste zur Immunisierung hervorragend geeignet seien, und Behring[3] konnte Meerschweinchen zu höchsten Immunitätsstufen führen, wenn er zunächst Grundimmunität durch Mischungen von Antitoxin und Gift (mit unausgeglichenem Giftrest) erzeugte und dann reines Gift gab.

Ein weiteres Beispiel, das in diese Gruppe gehört, geben die Immunisierungsversuche von Grassberger & Schattenfroh gegenüber Rauschbrand: die mit Rauschbrandgiftlösungen behandelten Rinder wiesen an den Impfstellen mitunter starke Schwellungen auf, unter

denen das Allgemeinbefinden litt. Diese örtlichen Reaktionen kamen in Wegfall, als G. & S. Giftserumgemische injizierten, die in gleicher Weise zur Giftimmunität führten. Dabei war es ohne Belang, ob vollständig oder unvollständig neutralisierte oder auch überkompensierte Mischungen zur Anwendung kamen. Durch Kombination mit weiterer Injektion von Giftlösungen konnte auch hier die Immunität noch gekräftigt werden. (Bekanntlich machten G. & S. an den so vorbehandelten Tieren die wichtige Beobachtung, daß diese Giftimmunität gegen die natürliche Infektion völlig unwirksam ist.)

Gleichzeitige Injektion von Vibriolysin und Antitoxin (an verschiedenen Körperstellen) ist von Tallquist zur Einleitung der Toxinimmunisierung mit Erfolg vorgenommen worden, und zwar intraperitoneale oder subkutane Toxininjektion und gleichzeitige intravenöse Zufuhr von Antitoxin. Wartete Tallquist aber nach der Seruminjektion 2 oder mehrere Stunden, bevor er das Toxin einführte, so blieb aktive Immunität aus. Erfolgte nach passiver Immunisierung die Toxininjektion intravenös, so trat immer Antikörperproduktion ein. Wurden die Antikörper intravenös eingeführt bei Kaninchen, die schon vorher nach Vibriolysinzufuhr einen gewissen Grad von Immunität besaßen, so addierten sich die Antikörper anfänglich, um dann aber schnell abzunehmen. — Von Interesse ist auch, daß nach Injektion einer neutralisierten Mischung von Vibriolysin + Antitoxin Antikörper sich bilden können (Injektion intraperitoneal oder intravenös).

D. Immunisierungs-Schemata für den Laboratoriumsgebrauch.

I. Cholera.
II. Typhus.
III. Paratyphus A.
IV. Paratyphus B.
V. Dysenterie Shiga-Kruse.
VI. Dysenterie Flexner, Y.
VII. Hämolysin.
VIII. Präzipitin.

I. Cholera.

1. Choleraserum, agglutinierend.

Kaninchen, intravenös.

Abtötung der 24-stündigen Agarkulturvibrionen 1 Stunde bei 60°.

1. 1 Oese, nach 7 Tagen:
2. 3 Oesen, nach 7 Tagen:
3. 5 Oesen, 7 Tage warten. Blutentnahme. Gut virulente Kulturen sind brauchbarer als avirulente oder atypische (Kolle).

2. Choleraserum, bakteriolytisch.

Kaninchen.

a) Einmalige intraperitoneale Injektion einer ganzen bei 56° eine Stunde lang erwärmten Cholerakultur.

Entbluten 14 Tage nach der Injektion.

Zum Ausgleich der Tierindividualität mehrere Tiere impfen, Sera mischen.

b) Subkutan oder intraperitoneal.

Abtötung wie oben.

1. 1 Oese, nach 7 Tagen:
2. 3 Oesen, nach 7 Tagen:
3. 5 Oesen, nach 7—14 Tagen Entbluten.

II. Typhus.

1. Mit abgetöteten Kulturen.

a) Ziegen (nach M. Neisser, erwähnt bei Böhme).

Intravenös. Abtötung 1 Stunde 65—70°.

1. Injektion 1 Agarkultur.
2. Injektion 2 Agarkulturen.

Zwischenpause 10 Tage. Bei schweren Erscheinungen warten bis Zustand normal. Serum wirkt bakteriolytisch und agglutinierend.

b) Kaninchen, $1^1/_2$—2 kg.

Intravenös. Abtötung 1 Stunde 58°.

1. Injektion $^1/_2$—1 Oese.
2. Injektion 2—$2^1/_2$ Oesen.
3. Injektion $2^1/_2$—5 Oesen.

Es genügen oft auch nur 2 Injektionen.

Zwischenpausen 8—10 Tage.

Blutentnahme 8 Tage nach der letzten Injektion.

Reagieren die Tiere stark mit Gewichtsabnahme, so ist die kleinere Dosis zu wählen. (Agglutinierend und bakteriolytisch.)

c) Kaninchen. Intravenös. Antigen: 1 Oese eintägiger Agarkultur, suspendiert in 1 ccm physiol. Kochsalzlösung, abgetötet eine Stunde 58°.

1. Injektion 1 Oese; nach 8 Tagen:
2. Injektion 1 Oese.

8 Tage warten. Blutentnahme. (Agglutinierend und bakteriolytisch.)

d) Kaninchen (nach Besserer & Jaffé). Bacillen 1—2 Stunden 60° abgetötet.

	1.	Injektion	$^1/_2$	Kultur	subkutan
nach 10 Tagen	2.	„	1	„	„
„ 10 „	3.	„	$^1/_2$	„	intraperitoneal
„ 10 „	4.	„	1	„	„
„ 10 „	5.	„	2	„	„

(Zur Gewinnung bakteriolytischer Seren.) Titer gegen den zur Immunisierung benutzten Stamm 0,1—0,5 mg.

e) Meerschweinchen. Abtötung 1—2 Stunden 60°.

	1.	Injektion	$^1/_4$	Kultur	subkutan
nach 12 Tagen	2.	„	$^1/_2$	„	„
„ 12 „	3.	„	$^1/_4$	„	intraperitoneal
„ 12 „	4.	„	$^1/_2$	„	„

2. Mit lebendem Virus.

Meerschweinchen. Als Dosis let. sei für Tiere von 500 g $^1/_2$ Oese gefunden.

1. zu Beginn: $^1/_{10}$ Oese intraperitoneal.
2. nach 8 Tagen: $^1/_5$ „ „
3. „ 8 „ $^1/_2$ „ „
4. „ 8 „ 1 „ „

III. Paratyphus B.

1. Bakteriolytisches Serum.

Kaninchen.

a) Subkutan. Zwischenpausen 10 Tage.

1. Injektion $^1/_4$ Agarkultur 2 Std. bei 60° abgetötet;
2. „ $^1/_2$ „ 2 „ „ 60° „
3. „ $^1/_8$ „ lebend; unter Umständen:
(4. „ $^1/_4$ „ „).

10 Tage warten. Blutentnahme.

b) Intraperitoneal. Zwischenpausen 10 Tage.

1. Injektion $^1/_4$ Agarkultur abgetötet (2 Std. 60°);
2. „ $^1/_2$ „ „ (2 „ 60°);
3. „ 1 „ „ (2 „ 60°);
4. „ $^1/_4$ „ lebend.

10 Tage warten, Blutentnahme. (KUTSCHER & MEINICKE.)

2. Agglutinierendes Serum.

a) Intravenös.

1. 1 Oese 20 Std. alter Agarkultur, in 1—2 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt, 1 Std. bei 60° abgetötet.
2. 3 Oesen abgetöteter Kultur; nach 8 Tagen:
3. 5 Oesen abgetöteter Kultur; eventuell nach 8 Tagen:
4. 6 oder 10 Oesen abgetöteter Kultur.

Bei toxischen Stämmen ist mit $^1/_4$ oder $^1/_2$ Oese abgetöteter Kultur zu beginnen, dann auf 1 und später auf 2 Oesen zu steigern.

b) Nach SOBERNHEIM & SELIGMANN. Intravenös.

1. $^1/_{20}$—$^1/_{10}$ Oese Agarkultur, 1 Std. bei 56° abgetötet:
2. nach 5—7 Tagen $^1/_5$—$^1/_4$ Oese 1 Std. bei 56° abgetötet:
3. „ 5—7 „ $^1/_2$ Oese 1 Std. bei 56° abgetötet.

Eine Woche nach der 2. oder 3. Injektion Probeentnahme, eventuell noch 4. Injektion mit 1 Oese ebenso abgetöteter Kultur.

IV. Paratyphus A.

Agglutinierendes Serum: Kaninchen intravenös wie bei Paratyphus B sub b), aber lebende Kultur.

V. Dysenteriebacillen (Shiga-Kruse).

Agglutinierendes Serum.

Kaninchen (kräftige). Intravenös. 5—6-tägige Intervalle. Lebende Kultur (Agar).

1. $^1/_{100}$ Oese
2. $^1/_{50}$ „
3. $^1/_{50}$ „
4. $^1/_{25}$—$^1/_{16}$ „
5. $^1/_{12}$—$^1/_{5}$ „
6. $^1/_{6}$ —$^1/_{2}$ „

Am 8.—10. Tage nach der letzten Injektion entbluten. (Nach Lentz).

3 kann eventuell fortgelassen werden.

Lüdke nimmt auch abgetötete Bacillen (Beginn mit $^1/_{10}$ Oese).

VI. Dysenteriebacillen (Flexner, Y).

Agglutinierendes Serum.

Kaninchen, intravenös. Intervalle von 5—6 Tagen. (Nach Lentz.)

1. $^1/_2$ Oese lebende Kultur (24-stündig).
2. 2 Oesen „ „ „
3. 6 „ „ „ „

VII. Hämolysingewinnung.

I. Kaninchen. Antigen: Hammelblut, Rinderblut, Ziegenblut usf. Gewaschen.

1. Zu Beginn: intravenös 0,5—5 ccm,
2. nach 6—8 Tagen intravenös 0,5—5 ccm,
3. „ 6—8 „ intraperitoneal 2—5 ccm;

Warten 8 Tage. Blutabnahme. Die 3. Injektion ist mitunter unnötig.

II. Kaninchen. Antigen: wie oben. Gewaschen.

1. Zu Beginn: 30 ccm Blut intraperitoneal;
2. nach 8—10 Tagen: 30—40 ccm intraperitoneal.

Warten 9—10 Tage. Blutabnahme. (Nach H. Sachs.)

VIII. Präzipitingewinnung.

I. Vorbehandlung von Kaninchen mit Serum nach Uhlenhuth.

1. Zu Beginn 1—3 ccm Serum intravenös (oder intraperitoneal),
2. nach 5—6 Tagen desgleichen,
3. nach weiteren 5—6 Tagen desgleichen,
4. 6 Tage warten. Probeentnahme.

II. Methode des Paltaufschen Instituts.

1. Zu Beginn: 1 ccm Serum pro Kilogramm Körpergewicht intravenös,
2. nach 4 Wochen: desgleichen,
3. 8 Tage warten. Entbluten.

III. Vorbehandlung von Kaninchen mit zelligem Material.
1. Zu Beginn 3—5 ccm intraperitoneal,
2. nach 5—6 Tagen desgleichen,
3. nach weiteren 5—6 Tagen desgleichen,
4. 6 Tage warten. Blutentnahme.

IV. Schnellimmunisierung nach FORNET & MÜLLER.
Kaninchen. Antigen-Serum oder anderes eiweißhaltiges Material.
Zu Beginn 5 ccm, am nächsten Tage 10 ccm, am 3. Tage 15 ccm Antigen intraperitoneal.
Verbluten am 12. Tag.

Literatur.

ABE, J., zit. Zeitschr. f. Immunitätsf., 2. Teil, Ref., Bd. 4, 648, **1911**. Original: Zeitschr. f. Militärärzte. Japan, **1911**, Nr. 23.
ABEL, J. J., & FORD, W. W., Journ. biolog. chemistry, Vol. 2, 273, **1907**.
ACHALME, Annal. de l'inst. Pasteur, T. 15, 737, **1901**.
D'AGATA, G., Ann. de l'inst. Pasteur, T. 24, 330, **1910**, ferner Gazz. int. med. **1910**, Nr. 29.
ALEXANDRESCU & CIUCA, Compt. rend. soc. Biol., T. 68, **1910**.
AMAKO, TAMIE, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1. Abt., Orig., Bd. 5, 610, **1910**.
ARLOING, CORNEVIN & THOMAS, Le charb. sympt. du bœuf, Paris **1887**, 2. éd.
[1] ARONSON, H., Berl. klin. Wochenschr., **1898**, S. 484.
[2] — Berl. klin. Wochenschr., **1910**, Nr. 35, S. 1620.
ASCHER, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 29, 125, **1901**.
ASCOLI, A., La clin. vet., Vol. 34, Nr. 12, **1911**.
ASCOLI & BONFANTI, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 43, 156.
ATKINSON, Journ. med. research, Vol. 9, 173.
[1] BABES, Lyssa-Literatur, s. Bd. 6, Lyssa.
[2] — Bull. de l'acad. de méd., T. 34, 216.
[3] — Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 55, S. 27.
[4] — Communication au Congr. pour l'étude de la tub., **1893**.
[5] — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 47, 179, **1904**.
BABES & TELASESCU, Ann. de l'inst. Pasteur, **1894**.
BÄCHER, ST., Meningokokkenserum. Im Handb. d. Immunitätsf. von KRAUS-LEVADITI, Ergänzungsband 1, S. 80.
[1] BAIL, Archiv f. Hyg., Bd. 52, 272, **1905**.
[2] — Wien. klin. Wochenschr., **1905**, Nr. 17.
[3] — Ebenda, **1904**, Nr. 30; **1905**, Nr. 9 und Nr. 21.
[4] — Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 36 u. 37.
BAIL, O., & WEIL, E., Wien. klin. Wochenschr., **1906**, Nr. 9, 14, 27.
BANDELIER & RÖPKE, Lehrbuch der spezifischen Diagnostik und Therapie der Tuberkulose, 6. Aufl., Würzburg **1911**.
BARNARD, J. E., & HEWLETT, R. T., Proc. Roy. soc., ser. B., Vol. 84, p. 5.
BARRATT, W. J. O., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 35, 633.
BARTEL, J., & HARTL, R., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 48, 667, **1909**.
BARTEL, J., & NEUMANN, W., Ebenda, S. 657.
[1] BASSENGE, R., Deutsche med. Wochenschr., **1908**, Nr. 4, S. 139.
[2] — Ebenda, Nr. 29, S. 1257.
[3] — Ebenda, **1909**, Nr. 3, S. 108.
[1] BASSENGE, R., & MAYER, M., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 36, 332, **1904**.
[2] — — Deutsche med. Wochenschr., **1905**, S. 697.
BASSENGE, R., & RIMPAU, W., Festschr. z. 60. Geburtstage von R. KOCH. Jena **1903**, S. 315.
v. BAUMGARTEN, DIBBELT & DOLD, Arb. a. d. Path. Inst. Tübingen, Bd. 7, 397, **1910**.
BAUTZ, F., & MACHODIN, S., Berl. tierärztl. Wochenschr., **1910**, S. 264.
BAYLISS & STARLING, Journ. of phys., Vol. 32, 129, zit. nach OPPENHEIMER, Fermente, Spez. Teil, S. 206.
[1] v. BEHRING, Behringwerkmitteilungen, H. 1.
[2] — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 12.

[3] v. Behring, Allgem. Therapie der Infektionskrankheiten. Beitr. z. exper. Ther., **1900**, H. 3, S. 1093.
[4] — Deutsche med. Wochenschr., **1890**, S. 1145.
Behring & Knorr, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 13, **1893**.
Behring & Ransom, Deutsche med. Wochenschr., **1898**, Nr. 12.
Behring & Wernicke, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 12, S. 10.
Beinarowitsch, Arch. des scienc. biol., T. 6.
Beiträge zur Schutzimpfung gegen Typhus. H. 28 der Veröffentlichungen a. d. Gebiete des Militär-Sanitätswesens. Berlin **1905**.
Beitzke & Neuberg, Virch. Arch., Bd. 183, S. 169, **1906**.
Bergell, P., & Meyer, F., Med. Klinik, **1906**, Nr. 16, S. 412.
Bergell & Schütze, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 50, 305, **1905**.
v. Bergmann & Bamberg, Berl. klin. Wochenschr., **1908**, S. 1396.
Bericht über die Tätigkeit der zur Erforschung der Pest im Jahre 1897 nach Indien entsandten Kommission. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 16, 302, 1899.
[1] Bertarelli, E., Deutsche med. Wochenschr., **1904**, S. 1195.
[2] — Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 38, 584.
[3] — Centralbl. f. Bakt., Bd. 40, 231, **1905**.
Besnoit, Leclainche & Morel, zitiert nach P. Römer in Kraus-Levaditi, Handbuch, Ergänzungsband 1, S. 334.
[1] Besredka, Ann. de l'inst. Pasteur, T. 19, 477, **1905**.
[2] — Ebenda, T. 20, 304, **1906**.
[3] — Compt. rend. soc. Biol., T. 66, Nr. 3, **1909**.
[4] — Ebenda, T. 67, Fasc. 27, p. 266, **1909**.
[5] — Compt. rend. soc. Biol., T. 70, 203, **1911**.
[6] — Ann. de l'inst. Pasteur, **1902**.
Besserer & Jaffé, Deutsche med. Wochenschr., **1905**, S. 2044.
Beumer & Peiper, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 1, 489, **1886** und Bd. 2, 110, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 28, 328.
Beyer, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 56, H. 2, **1910**.
Cesa Bianchi, D., zitiert nach Zeitschr. f. Immunitätsf., 2. Teil, Ref., Bd. 4, S. 651, **1911**.
Cesa Bianchi & Agazzi, Ebenda, S. 652; Originale in Pathologia, Vol. 3, Nr. 59, 61 und S. 257—265, **1911**.
Bingel, A., Münch. med. Wochenschr., **1909**, S. 1326.
Bischoff, H., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 54, 262, **1906**.
Blaizot, Compt. rend. soc. Biol., T. 67, 421, **1909**; T. 68, Nr. 2, **1910**.
Blumenau, N. R., Referat: Zeitschr. f. Immunitätsf., 2. Abt., Bd. 4, 353.
Blumenthal, Ph., Berl. klin. Wochenschr., **1908**, Nr. 26.
Böhme, A., Bakteriolytische Sera. Im Handbuch der Immunitätsf. von Kraus-Levaditi, Bd. 2, 366.
Bonhoff, H., & Tsuzuki, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 4, 180.
Bordet, J., Ann. de l'inst. Pasteur, T. 14, 257, **1900**.
[1] Bordet & Gengou, Ann. de l'inst. Pasteur, T. 15, 129, **1901**.
[2] — — Ebenda, T. 23, 415, **1909**.
Bordet, J., & Sleeswijk, Ann. de l'inst. Pasteur, T. 24, 476, **1910**.
[1] Brau & Denier, Compt. rend. acad. sc., **1906**, Nr. 12, p. 728.
[2] — — Ann. de l'inst. Pasteur, T. 20, Nr. 7, p. 578, **1906**.
Braun, Chemiker-Ztg., **1905**, Nr. 29, S. 34.
Breton, M., & Petit, L., Compt. rend. soc. Biol., **1908**, Nr. 16.
[1] Brieger, L., Deutsche med. Wochenschr., **1902**, S. 477.
[2] — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 19, 111, **1895**.
Brieger, L., & Cohn, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 15, S. 1.
Brieger, L., Kitasato & Wassermann, A., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 12, 137, **1892**.
[1] Brieger, L., & Mayer, M., Deutsche med. Wochenschr., **1903**, S. 309.
[2] — — Ebenda, **1904**, S. 980.
Brieger, L., & Schütze, Deutsche med. Wochenschr., **1902**.
[1] Briot, Thèse de Paris, **1900**.
[2] — Journ. de physiol. et path., **1903**, p. 784, zitiert nach Maly.
[1] Briot & Dopter, Compt. rend. soc. Biol., T. 69, fasc. 24, p. 10, **1910**.
[2] — — Ebenda, Nr. 27.
Broll, R., Berl. tierärztl. Wochenschr., **1910**, S. 916.
Brown, zitiert nach Friedberger im Handbuch von Kraus-Levaditi, Bd. 1. 780. Original: Indian med. gaz., **1896**, p. 247.
Bruck, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 46, 176, **1904**.

Brückner, G., Zeitschr. f. Immun., Bd. 8, 439, **1911**.
Brunner, Georges, Arch. internat. pharmac. et thér., T. 20, Fasc. 34, **1910**.
Bruschettini, A., & Morelli, F., Ann. Inst. Maragliano, Vol. 4, 30, **1910**.
Bujwid, Hyg. Rundschau, **1895**.
Buchner, H., Münch. med. Wochenschr., **1897**, S. 298 und 1343.
Bulloch, W. Transactions of the pathol. soc. of London, Vol. 54, **1903**.
Buxton, B. H., & Vaughan, Journ. of med. Research., Vol. 12, 115, **1904**.
Buxton, B. H., & Torrey, J. C., Journ. of med. Research., Vol. 14, 551, **1906**.
[1] Calmette, M., Schlangengifte. Handb. d. Immunitätsforsch. von Kraus-Levaditi, Bd. 1, 294.
[2] — Ueber Antitoxin der Schlangengifte. Ebenda, Bd. 2, 243.
[3] — Compt. rend. acad. scienc., T. 142, p. 441, 616, 1319.
[4] — Ann. de l'inst. Pasteur, T. 5, 633.
[5] — Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 1, 283.
[6] — Ann. de l'inst. Pasteur, **1905**, p. 601.
[1] Calmette, A., & Guérin, Ann. de l'inst. Pasteur, **1907**, **1908**.
[2] — — Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Orig., Bd. 1.
[3] — — Compt. rend. acad. sc., **1910**, 4 juillet.
[4] — — Rév. vétérin., **1910**, 1 juillet.
[5] — — Compt. rend. acad. sc., T. 149, Fasc. 3, p. 191, 716.
[6] — — Ann. de l'inst. Pasteur, T. 15, 161, **1901**.
Calmette, A., & Massol, L., Compt. rend. soc. Biol., T. 68, Nr. 2, **1910**.
[1] Camus, L., & Gley, E., Arch. internat. de pharmacodyn., T. 5, **1898**.
[2] — — Ann. de l'inst. Pasteur, T. 13, **1899**.
Carrière, H., & Tomarkin, E., Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 1. Abt., Orig., Bd. 4, 30, **1910**.
Castellani, A., Riv. crit. di Clin. Med., **1905**, Nr. 40—42; Ref. Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 40, 603, **1907**.
Chantemesse, Münch. med. Wochenschr., **1912**, Nr. 10, S. 565.
Chantemesse, A., & Widal, F., Ann. de l'inst. Pasteur, T. 2, 54, **1888**; T. 4, 755, **1892**; T. 6.
Chaumier, E., Rév. intern. de la Vaccine, T. 1, 28, **1910**.
[1] Chauveau, Compt. rend. de l'acad., T. 98, **1884**.
[2] — Compt. rend. soc. Biol., T. 106, 392.
Chvostek, F., Wien. klin. Wochenschr., **1908**, Nr. 14, S. 453.
[1] Citron, J., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 41, 230.
[2] — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52, 238.
[3] — Ebenda, Bd. 53, 159.
[4] — Ebenda, S. 515.
Citron, J., & Pütz, R., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 56, 145.
Coca, A. F., Biochem. Zeitschr., Bd. 14, 125, **1908**.
Cole, Rufus J., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 46, 371.
[1] Conradi, H., Deutsche med. Wochenschr., **1903**, S. 26.
[2] — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 31, 303.
Courmont, S., & Rochaix, A., Compt. rend. acad. scienc., T. 152, Nr. 12 et 15, **1911**; T. 153, 1911, Nr. 2 et 6, p. 397.
Crendiropoulo & Ruffer, A., Compt. rend. soc. Biol., T. 52, 1109.
Cruz, Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, 911, **1902**.
Daremberg, Bull. de l'acad. de méd., **1889**, p. 391.
Dautwitz, Fr., & Landsteiner, K., Hofmeisters Beitr., Bd. 9, 431, **1907**.
Dean, zitiert nach Maly, **1902**.
[1] Dedjulin, Zeitschr. f. Infektionskrankheiten d. Haustiere, Bd. 9, 382, **1911**.
[2] — Ref. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 2. Teil, Ref., Bd. 4, 733; Orig. in Arch. Weter. Nauk, **1911**, p. 601.
Delanoë, P., Journ. de physiol. et de path. gén., T. 11, Nr. 3, p. 441, **1909**.
De Rossi, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 37, 433.
[1] Deycke, G., & Much, H., Med. Klinik, **1908**, S. 1541.
[2] — — Brauers Beiträge zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 15, 277, **1910**.
[3] — — Münch. med. Wochenschr., **1909**, S. 1985.
[4] — — Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 54, 342.
Dieudonné, Münch. med. Wochenschr., **1905**, Nr. 17, S. 834.
Ditthorn, F., Berl. klin. Wochenschr., **1910**, Nr. 34, S. 1581.
[1] Doerr, Das Dysenterietoxin. Handb. der Immunitätsforsch., von Kraus-Levaditi, Bd. 1.
[2] — Ebenda, Ergänzungsband 1, 51.

[1]Dold, H., Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 1. Teil, Orig., Bd. 10, 53, **1911**.
[2]— Deutsche med. Wochenschr., **1911**.
[1]Dopter, Ch., Ann. de l'inst. Pasteur, T. 23, 677, **1909**.
[2]— Compt. rend. soc. Biol., T. 69, Nr. 36, **1910**.
[3]— Ebenda, **1909**, Nr. 17.
Dorset, Bureau of Animal Industry, Febr. **1904**, Circular 43.
Dorset, McBryde & Niles, Bulletin 102 of the Bureau of Animal Industry. Washington **1908**.
Dreyer, G., & Madsen, Th., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37, 250, **1901**.
Dunbar, W. P., Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 1. Teil, Orig., Bd. 4, 740,
[1]v. Dungern, Münch. med. Wochenschr., **1898**, S. 1157.
[2]— Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 24, 710, **1898**.
[3]— Zeitschr. f. allg. Physiol., Bd. 1, 34, **1902**.
[4]— Die Antikörper. Jena **1903**.
[5]— Centralbl. f. Bakt., Bd. 19, S. 137, **1896**.
[1]Dzierzgowski, Arch. des scienc. biol. de St.-Pétersb., T. 5 u. 9.
[2]— Russky Wratsch, **1910**, Nr. 22, S. 753; Ref. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 2. Abt., Ref., Bd. 3, 602.
[3]— Arch. des sc. biol., T. 9, 293, St. Pétersb. **1902**; zitiert nach Eisenberg, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 34, 273.
[1]Eber, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Ref., Bd. 42, 257, **1909**.
[2]— Berl. tierärztl. Wochenschr., **1909**, Nr. 29 und 36.
Eggebrecht, M., Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere, Bd. 7, 54, **1910**.
Ehrenreich, Diss. Würzburg, **1900**.
[1]Ehrlich, P., Klin. Jahrbuch, Bd. 6, 299.
[2]— Ueber Ricin. — Ueber Abrin. Deutsche med. Wochenschr., **1891**, S. 976.
[3]— Ebenda, S. 1218.
[4]— Fortschritte der Medizin, **1897**, S. 41.
v. Eisler, M., Tetanus-Toxin und Antitoxin. Handb. d. Immunitätsforsch. von Kraus-Levaditi, Ergänzungsbd. 1, 29.
v. Eisler, M., & Löwenstein, E., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 61, H. 3, S. 271.
Elschnig, Gräfes Arch., Bd. 75, 459, **1910**.
Faust, E. G., Die tierischen Gifte. Braunschweig **1906**.
Fedoroff, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 13, 393, **1893**.
Fehrmann, Berl. tierärztl. Wochenschr., **1909**, S. 139.
[1]Fermi, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 53, 394, **1910**.
[2]— Ebenda, S. 533.
Ferran, zitiert nach dem Sammelreferat von Voges, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 19, 466, **1896**; siehe ferner dieses Handbuch, Bd. IV.
Fleckseder, R., & v. Steiskal, K., Wien. klin. Wochenschr., **1904**, S. 793.
Fleischmann, P., & Davidsohn, H., Folia serol. I, T. 73, **1908**.
Flexner, S., & Jobling, J. W., Journ. exp. med., T. 10, 141, **1908**.
Flexner, S., & Lewis, P. A., Journ. of the Am. med. assoc., Vol. 55, Nr. 8, p. 662, **1910**.
Flexner & Noguchi, Journ. of Path. and Bact., Vol. 8, 379.
— — Journ. of med. Research., Vol. 9, Nr. 2, **1904**.
Fornario, G., Ann. de l'inst. Pasteur, T. 22, 353, **1908** und Compt. rend. soc. Biol., T. 64, 24, **1908**.
Fornet, W., & Müller, M., Zeitschr. f. biol. Technik u. Methodik, Bd. 1, 201, **1908**.
[1]Forssman, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 38, 463, **1905**.
[2]— Biochem. Zeitschr., Bd. 9, 330, **1908**.
Foth, H., Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere, Bd. 10, 1, **1911**.
[1]Fränkel, C., Berl. klin. Wochenschr., **1890**, S. 1133.
[2]— Ebenda, **1905**, Nr. 3.
Freymuth, Beitr. zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 20, H. 2, **1911**.
[1]Friedberger, E., v. Leydens Festschr., Bd. 2.
[2]— Berl. klin. Wochenschr., **1904**, Nr. 10.
[3]— Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 40, 405, **1906**.
[4]— Die Methoden der Schutzimpfung gegen Typhus. Darstellung der Impfstoffe. Resultate beim Menschen. Handb. d. Immunitätsforsch. von Kraus-Levaditi, Bd. 1, 723.
[5]— Die Methoden der Schutzimpfung gegen Cholera. Darstellung der Impfstoffe. Resultate beim Menschen. Ebenda, S. 774.

[1] Friedberger, E., & Moreschi, C., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 39, 453.
[2] — — Deutsche med. Wochenschr., **1906**, Nr. 49.
[3] — — Berl. klin. Wochenschr., **1905**, S. 1409.
[4] — — Ebenda, **1904**, Nr. 10.
Friedberger, E., & Dorner, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 38.
[1] Friedmann, F., Deutsche med. Wochenschr., **1903**, S. 953 und Nr. 50; ebenda, **1904**, Nr. 5 und 46.
[2] — Therapeut. Monatshefte, **1904**, S. 123.
v. Fürth, O., & Jerusalem, E., Hofmeisters Beitr., Bd. 10, 131.
[1] Gabritschewsky, G., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 41, S. 719 u. 844.
[2] — Ref. Centralbl. f. Bakt., **1898**. Original in: Russ. Arch. f. Path. u. klin. Med., **1897**.
Gaffky, Pfeiffer, Sticker, Dieudonné, Bericht über die Tätigkeit der zur Erforschung der Pest entsandten Kommission. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 16, **1899**.
Gaffky, Kolle, Hetsch, Kutscher, Klin. Jahrb., Bd. 14, 124, **1905**.
Galavielle & Martin, Compt. rend. soc. Biol., **1902**, 14. Juni; Montpellier Médical, **1902**, p. 712.
Galli-Valerio & Bornaud, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 7, 331, **1910**.
Garbat, A. L., & Meyer, F., Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Ther., Bd. 8, S. 1, **1910**.
Gasbarrini, A., zit. nach Zeitschr. f. Immunitätsf., 2. Abt., Ref., Bd. 1, 209.
de Gasperi, F., Compt. rend. soc. Biol., T. 69, Fasc. 29, **1910**.
Gay, F. P., Pennsylv. med. Bull., **1902**.
Gebb, H., Arch. f. Augenheilk., Bd. 64, H. 4, **1909**.
[1] Gessard, C., Ann. de l'inst. Pasteur, T. 15, 593, **1901**.
[2] — Compt. rend. soc. Biol., T. 54, 551, **1903**; T. 55, 227.
Gessard, C., & Wolff, J., Compt. rend. acad. scienc., T. 146, 414, **1908**.
Gildersleeve, N., Journ. of the Amer. med. ass., Vol. 57, Nr. 4, p. 286, **1911**.
Glässner, K., Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Ther., Bd. 1, 640, **1905**.
Glässner, K., & Rosculec, V., Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Ther., Bd. 3, S. 314, **1908**.
Gottstein, E., Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 94, 255, **1908**.
Graetz, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1. Abt., Orig., Bd. 6, 629, **1910**.
Grancher & Ledoux-Lebard, Arch. de méd. exp. et d'anat. path., **1891**, p. 148.
Grancher & Martin, Sem. méd., **1890** und Revue de la tub., T. 1, **1893**.
Grassberger, R., & Schattenfroh, A., Das Rauschbrandgift, Handbuch der Immunitätsf. von Kraus-Levaditi, Bd. 1, 161.
[2] — — Die Rauschbrandschutzimpfung. Ebenda, S. 894.
[3] — — Das Rauschbrandantitoxin. Ebenda, Bd. 2, 186.
[4] — — Ueber das Rauschbrandgift. Wien **1904**.
Grigorjew, A. W., Russky Wratsch, **1911**, Nr. 36, p. 1397; Ref. in Zeitschr. f. Immunitätsf., 2. Abt., Bd. 4, 689.
Haendel, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 30, 363, **1909**.
Haentjens, A. H., Zeitschr. f. Tub., Bd. 11, S. 230 u. 323, **1907**.
Haffkine, Literatur bei Voges, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 19, 469, **1896**; ferner dieses Handbuch, Bd. 4.
— Indian med. gaz., **1897**; zitiert nach Schottelius, Hyg. Rundschau, **1901**, Nr. 3.
[1] Hahn, M., Münch. med. Wochenschr., **1897**, S. 1344.
[2] — Ebenda, **1910**, S. 736.
[3] — Münch. med. Wochenschr., **1903**, S. 2172.
Hallwachs, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 69, 149, **1911**.
Hamburger, Beitr. z. Klin. d. Tuberkul., Bd. 13, **1909**.
Harrison, W. S., Journ. of the Roy. Army med. corps, **1907**, Mai.
Hawthorn, Compt. rend. soc. Biol., **1909**, Nr. 8.
[1] Heim, L., Münch. med. Wochenschr., **1909**, S. 1.
[2] — Hyg. Rundschau, **1902**, S. 588.
[3] — Lehrbuch der Bakteriologie, 4. Aufl., **1911**, S. 15.
Helfers, A., Zeitschr. f. Infektionskrankh. der Haustiere, Bd. 7, 405, **1910**.
Heller, C., Die Schutzimpfung gegen Lyssa. Jena, G. Fischer, **1906**.
Heller, C., & Bertarelli, Centralbl. f. Bakt, 1. Abt., Orig., Bd. 36.
Henri, V., & Kaylof, Soc. Biol., T. 60, 884, **1906**, 25. Mai.
[1] Héricourt & Richet, Etudes exp. et clin. sur la tuberculose, **1892**, A. 3, Fasc. 2, p. 365.
[2] — — Compt. rend. de l'ac., T. 114, p. 854 et 1889, **1892**.

Hetsch & Kutscher, in Heft 28 (Beiträge zur Schutzimpfung gegen Typhus) der Veröffentlichungen a. d. Gebiete d. Militär-Sanitätswesens. Berlin **1905**, s. ferner unter Gaffky-Kolle-Hetsch-Kutscher.
Hewlett, R. Tanner, Lancet, **1910**, Vol. 2, p. 1212.
Heymans, Bull. acad. de méd. de Belgique, **1904**, 31. Dez.; ferner Arch. intern. de pharm. et thér., T. 14, 16, 17, 18, 19.
Hida, O., & Toyoda, H., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Ref., Bd. 42, 418, **1909**.
Hildebrandt, H., Virch. Arch., Bd. 184, 325, **1906**.
[1] Högyes, A., Lyssa, Wien **1897**. Spez. Pathol. u. Ther. von Nothnagel, Bd. 5.
[2] — Centralbl. f. Bakt., Bd. 2, 579, **1887**.
[3] — Ebenda, Bd. 4, 732.
Hoffmann, W., Hyg. Rundschau, **1903**, Nr. 3.
— Deutsche med. Wochenschr., **1909**, Nr. 13, S. 564.
Hoke, E., Wien. klin. Wochenschr., **1906**, Nr. 2.
— Zeitschr. f. Hyg., Bd. 50, 541, **1905**.
Hueppe & Kikuchi, Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, 610.
Hutyra, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere, Bd. 2, H. 4 u. 5, **1907**.
— Ebenda, Bd. 8, S. 1.
Hutyra, F., & Wetzl, J., Zeitschr. f. Infektionskrankheiten, parasitäre Krankheiten und Hygiene der Haustiere, Bd. 6, S. 1, **1909**.
— Berl. tierärztl. Wochenschr., **1909**, Nr. 47, S. 863.
Holmes, Journ. of trop. vet. sc., Vol. 4, p. 8, **1909**.
Jacobson, D., Compt. rend. soc. Biol., T. 70, Nr. 16, **1911**.
Jacobsohn, L., Münch. med. Wochenschr., **1903**, S. 2171.
Ide, M., La Cellule, T. 20.
Jessen, F., & Rabinowitsch, L., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 54, 454.
Joannovics, G., Die Cytotoxine. Zeitschr. f. Immunitätsf., 2. Abt., Bd. 1, 197.
Jochmann, G., Virch. Arch. Bd. 194, 342, **1908**.
Jochmann, G., & Kantorowicz, A., Münch. med. Wochenschr., **1908**, Nr. 14 und Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 66, H. 1/2.
Jochmann, G., & Möllers, B., Deutsche med. Wochenschr., **1910**, S. 2141.
— — Ebenda, **1911**, Nr. 28, S. 1297.
Joest, E., Schweinerotlaufserum. Handbuch der Immunitätsf., von Kraus-Levaditi, Bd. 2, 515.
Joos, A., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 33, 762, **1903**.
Isaak, S., & von den Velden, Deutsche med. Wochenschr., **1904**, S. 982.
Ishigami, T., Philipp. Journ. of Science, Serie B., Vol. 3, Nr. 5, p. 379, **1908**; Ref. Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Ref., Bd. 44, 780.
Ishizaka, Tomotaro, Zeitschr. f. exper. Path. u. Ther., Bd. 4, 88, **1907**.
Issaeff & Kolle, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 18.
Kasten, Deutsche med. Wochenschr., **1903**, Nr. 36, S. 637.
[1] Kikuchi, Berl. klin. Wochenschr., **1905**.
[2] — Arch. f. Hyg., Bd. 52, 378.
[3] — Ebenda, Bd. 54, 297.
[4] — Wien. klin. Wochenschr., **1905**, Nr. 17.
Kitasato, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 10, 267, **1891**.
Kitasato, Takaki, Shiga & Moriya, Bericht über die Pestepidemie in Kobe und Osaka. Tokio **1900**.
[1] Kitt, Th., Vollständiges Literaturverzeichnis siehe dieses Handbuch, Band 4 bei Rauschbrand.
[2] — Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere, Bd. 9, H. 1/2, S. 99, **1911**.
Klein, A., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 39, 438, **1905**.
Klemperer, F., Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 48.
Klemperer, G., Berl. klin. Wochenschr., **1892**, S. 789 und 969.
Klemperer, G., & F., Berl. klin. Wochenschr., **1891**, S. 833.
[1] Klimmer, Zeitschr. f. Tub., Bd. 12, H. 5 und 6.
[2] — Berl. tierärztl. Wochenschr., **1908**, Nr. 14.
[3] — Beiträge z. Klinik der Tub., Bd. 17, 169.
Kobert, R., Lehrbuch der Intoxikationen, Bd. 1, **1902**; Bd. 2, **1907**, Stuttgart.
[1] Koch, R., Deutsche med. Wochenschr., **1897**, S. 209.
[2] — Ebenda, **1901**, S. 829.
[3] — Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 21, Nr. 13 und 14.
[4] — Deutsche med. Wochenschr., **1897**, Nr. 15 und 16.
[5] — Reiseberichte. Berlin, J. Springer, **1898**.
[6] — Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk., Bd. 30, **1904**.

[7] KOCH, R., Beibl. d. Deutschen Kolonialblattes vom 15. XII. **1901**.
[8] — Deutsche med. Wochenschr., **1904**, S. 1705.
[9] — Deutsche med. Wochenschr., **1891**, S. 101; ebenda, Nr. 43, S. 1189.
KOCH, R., GAFFKY & LÖFFLER, Mitteil. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 2, **1884**.
KOCH, R., SCHÜTZ, NEUFELD, MIESSNER, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 51.
KÖHLER, F., Zeitschr. f. Tub., Bd. 14, 90, **1909**.
[1] KOLLE, W., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 30, S. 33.
[2] — Darstellung des Schutzstoffes gegen Rinderpest. Handb. d. Techn. u. Method. d. Immunitätsforsch. von KRAUS-LEVADITI, Bd. 1, 985.
[3] — Rinderpestserum. Ebenda, Bd. 2, 588.
[4] — Deutsche med. Wochenschr., **1897**, S. 146.
[5] — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 36, 397, **1901**.
[6] — Centralbl. f. Bakt., Bd. 19, 97, **1896**,
[7] — Deutsche med. Wochenschr., **1897**, S. 4.
[8] — Klin. Jahrbuch, Bd. 14, Heft 2.
KOLLE, W., HELLER, O., & V. DE MESTRAL, Arb. a. d. Inst. z. Erforsch. der Infektionskrankheiten Bern, Heft 1, S. 1.
KOLLE, W., HETSCH, H., & OTTO, R., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 48, 368, **1904**.
KOLLE, W., & OTTO, R., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 45, 507, **1903**.
KOLLE, W., & STRONG, Deutsche med. Wochenschr., **1906**, S. 412.
KOLLE, W., & TURNER, G., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 29, 309, sowie Deutsche med. Wochenschr., **1897**, Nr. 50 und 51.
KOLLE, W., & WASSERMANN, A., Deutsche med. Wochenschr., **1906**, S. 609.
— — Klin. Jahrbuch, Bd. 15, H. 2, **1906**.
KONEW, D., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Ref., Bd. 40, 337.
KOSSEL, A., Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. 33, 5, **1901**.
KOSSEL, H., Berl. klin. Wochenschr., **1898**.
KOSSEL, H., WEBER, A., SCHÜTZ & MIESSNER, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 20, 1, **1904**.
KOWARSKI, A., Deutsche med. Wochenschr., **1901**, S. 442.
[1] KRAUS, R., Ueber Methoden der Schutzimpfung gegen Lyssa. KRAUS-LEVADITIS Handb., Bd. 1, 687.
[2] — Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 45, 332, **1907**.
[3] — Toxine des Choleravibrio und anderer Vibrionen. Handb. d. Immunitätsforsch. von KRAUS-LEVADITI, Bd. 1, 176.
[4] — Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Teil 1. Orig., Bd. 9, 117.
[5] — Monatsschr. f. Gesundheitspflege, **1904**, Nr. 11.
KRAUS, R., & BÄCHER, ST., Zeitschr., f. Immunitätsforsch., 1. Abt., Orig., Bd. 3, 14, **1909**.
KRAUS & GROSS, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 41, 67, **1908**.
KRAUS, R., & JOACHIM, J., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 36, 662, **1904** und Bd. 37, 73, **1904**.
[1] KRAUS & VOLK, Wien. klin. Wochenschr., **1910**, S. 289.
[2] — Ebenda, S. 699.
KRAUSE, Zeitschr. f. Tub., Bd. 10, H. 6.
KRUSE, Deutsche med. Wochenschr., **1903**, Nr. 1 und 3.
— Ebenda, **1901**, Nr. 23 und 24.
KRAWKOW, N., Russky Wratsch, **1909**, Nr. 16, zitiert nach Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Ref., Bd. 1, 609, **1909**.
KRETZ, R., Zeitschr., f. Heilk., **1901**, H. 4, S. 137.
KRYZANOWSKY, W. N., Russky Wratsch, **1909**, Nr. 39/40. Ref. Zeitschr. f. Immun., 2. Abt., Ref., Bd. 2, 933.
KUTSCHER & MEINICKE, E., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52 ,301.
LANDMANN, G., Hyg. Rundschau, **1900**, S. 361.
— Beitr. z. Klinik d. Tub., Bd. 10, H. 4.
LANDSTEINER, K., & LEVADITI, C., Compt. rend. soc. Biol., T. 67, 787, **1909**, sowie Annal. Past., T. 24, 833, **1910**.
LANGE, 5. Mikrobiolog.-Tagung, Dresden. Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 50, Beilage S. 171.
LANGER, J., Arch. f. exper. Path. u. Pharm., Bd. 38, 381.
LATAPIE, M., Ann. de l'inst. Pasteur, T. 16, 947, **1902**.
[1] LECLAINCHE, E., Revue vétérinaire, **1900**, 25. Année.
[2] — Recueil de méd. vét., 8. Sér., T. 7, **1900**.
[3] — Compt. rend. soc. Biol., **1899**.
[1] LECLAINCHE & VALLÉE, Ann. de l'inst. Pasteur, **1900** und **1902**.
[2] — — Revue gén. de méd. vét., 1. Juni **1908**.

Leers, O., Die forensische Blutuntersuchung. Berlin **1910**.
Leipziger, E., Zeitschr. f. Hyg. der Haustiere, Bd. 6, 143, **1909**.
Leishman, W. B., Journ. of the Roy. Army med. corps. **1907**, Mai.
Leishman, W. B., Harrison, W. S., Smallmann, A. B., & Tulloch, F. M. G., Journ. of Hyg., Vol. 5, 380, **1905**.
Leishman, W. B., Harrison, W. S., Grattan, H. W., & Archibald, R. G., Journ. of Roy. Army med. corps. **1908**, Juni und Oktober.
Leuchs, J., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 65, 55, **1910**.
Levaditi & Landsteiner, Compt. rend. acad. scienc., **1910**, 3. Jan., 10. Jan. Ferner Compt. rend. soc. Biol., **1910**, 19. Febr., 5. März, 30. April.
Levin, E. J., Ueber passive Immunität. Zeitschr. f. Imm., Bd. 1, 3, **1909**.
[1] Levy, E., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 33, 701, **1903**.
[2] — Med. Klinik, **1905**, Nr. 43.
Levy, E., & Aoki, K., Zeitschr. f. Immunitätsf., 1. Teil, Orig., Bd. 7, 435, **1910**.
Levy, E., & Blumenthal, F., Med. Klinik, **1906**, Nr. 16, S. 411.
[1] Levy, E., Blumenthal, F., & Marxer, A., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 42, 265, **1906**.
[2] — — — Ebenda, Bd. 46, 278, **1906**.
[3] — — — Ebenda, Bd. 47, 289, **1908**.
[4] — — — Zeitschr. f. Infektionskrankh. der Haustiere, Bd. 3, 294, **1908**.
Levy, E., & Hamm, A., Münch. med. Wochenschr., **1909**, S. 1728.
Levy, E., & Krencker, E., Hyg. Rundschau, **1908**, S. 323.
— — Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 1. Abt., Orig., Bd. 4, 286.
Levy, E., & Pfersdorff, F., Deutsche med. Wochenschr., **1902**, S. 879.
Levy, E., & Steinmetz, Arch. f. exper. Path. u. Pharm., Bd. 37.
Libbertz & Ruppel, Deutsche med. Wochenschr., **1906**, Nr. 4 und 5.
Lignières, Rev. vétér. Buenos Aires, Nov. **1909**, zitiert nach Zeitschr. f. Immunitätsf., 2. Abt., Bd. 2, 1054, **1909**.
Lindemann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, 191, **1910**.
[1] v. Lingelsheim, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 10, 331.
[2] — Arch. intern. de pharm. et thér., T. 6, fasc. 1 et 2.
Lippmann, H., Med. Klinik, **1910**, Nr. 38, S. 1477.
Loeb, L., Strickler, A., & Tuttle, Lucius, Virch. Arch., Bd. 201, H. 1, S. 5, **1910**.
[1] — Löffler, F., Deutsche med. Wochenschr., **1906**, S. 1240.
[2] — Deutsche med. Wochenschr., **1904**, S. 1913.
[3] — v. Leuthold-Festschr., Bd. 1.
Löle, W., Münch. med. Wochenschr., **1906**, Nr. 22, S. 1053.
Löwenstein, E., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 53, 541, **1910**.
— Zeitschr. f. Hyg., Bd. 62, 491, **1909**.
Löwenstein, E., & Pick, E. P., Bioch. Zeitschr., Bd. 31, 142, **1911**.
[1] Lorenz, Centralbl. f. Bakt., Bd. 13, 357, **1893**.
[2] — Deutsche Zeitschr. f. Tiermed., Bd. 20, **1894** und Bd. 21, **1895**.
[3] — Verhandl. des 7. intern. tierärztl. Kongresses, Baden-Baden **1899**.
Lubowski, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 35, 87, **1900**.
Lucet, A., Recueil de méd. vét., **1911**, Nr. 11, p. 357.
Lucksch, F., Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 45, 365.
[1] Lüdke, H., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 39, 518.
[2] — Ebenda, Bd. 38, 289, **1905**.
[3] — Ebenda, Bd. 40, S. 69, **1906**.
[4] — Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 98, 395, **1910**.
[5] — Münch. med. Wochenschr., **1910**, Nr. 23, S. 1233.
[6] — Die Bacillenruhr. Jena, G. Fischer, **1911**.
Lurje, M., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, H. 3, S. 314, **1911**.
Lustig, A., & Galeotti, G., Deutsche med. Wochenschr., **1897**, S. 227 u. 289.
[1] Maragliano, Die spezifische Therapie und Vaccination der Tuberkulose.
[2] — Berl. klin. Wochenschr., **1899**, S. 385.
[3] — Ebenda, **1904**, S. 603.
Mc Clintock, Ch. T., & Ferry, Newell, S., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 59, H. 4, **1911**.
Mc Clintock, Ch. T., & King, W. E., Journ. of infect. Dis., Vol. 6, p. 48, **1909**.
Macfadyen, A., & Sydney Rowland, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 34, 765, sowie Bd. 35, 415.
Mc Farland, W. Landram, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 9, 451.
Madsen, Th., Allgemeines über bakterielle Antigen-Toxine usw. Im Handbuch d. Immunitätsf. von Kraus-Levaditi, Bd. 1, S. 35.
— Diphtherietoxin. Ebenda, S. 71.

MADSEN, TH., & NOGUCHI, H., Bull. de l'acad. des sc. de Danemark, **1904**, p. 457.
MAGNUS, W., & FRIEDENTHAL, H., Ber. Deutsch. Bot. Ges., Bd. 25, 242.
MAKSUTOW, A., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 21, 317, **1897**.
MARIE, A., Wutschutzimpfung und Tollwutserum. Im Handbuch d. Immunitätsf. von KRAUS-LEVADITI, Ergänzungsband 1, S. 437, **1911**.
MARIE & TIFFENEAU, Compt. rend. soc. Biol., **1909**, Nr. 5.
MARKOFF, W. N., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 60, 188, **1911**.
MARKS, LEWIS HART, Arb. a. d. Königl. Inst. f. exper. Ther. zu Frankfurt a. M., **1908**, H. 4, S. 31.
MARTIN, E. J., Thèse Montpellier, **1903**.
MARTIN, L., Ann. de l'inst. Pasteur, T. 12, p. 26, **1898**.
MARTIN, L., PREVOT, A., & LOISEAU, Compt. rend. soc. Biol., T. 68, Nr. 23, **1910**.
MARTINI, E., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 50, S. 1, **1909**.
[1] MARX, E., Deutsche med. Wochenschr., **1899**, **1900**.
[2] — Lyssaimmunität. Dieses Handbuch, 1. Aufl., Bd. 4, 1264; daselbst auch reichhaltige Literatur.
[3] — Festschr. f. R. KOCH, Jena **1903**.
[1] MARXER, A., Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere, Bd. 8, 322, **1910**.
[2] — Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 1. Teil, Orig., Bd. 10, 118, **1911**.
[3] — Ebenda, Bd. 11, 644, **1911**.
[4] — Ebenda, Bd. 8, 194, **1910**.
MATTHES, M., Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 95, 367, **1909**.
MAYER, M., Deutsche med. Wochenschr., **1904**, S. 56.
MEDER, E., Allgem. med. Zentralztg., **1899**, Nr. 30 und 31.
MEINICKE, E., JAFFÉ, J., & FLEMMING, J., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52, 416, **1906**.
MENDEL, F., Brauers Beitr. z. Klinik der Tub., Bd. 13, 139, **1909**.
MENNES, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 25, 413, **1897**.
MERKEL, H., Münch. med. Wochenschr., **1906**, Nr. 31, S. 1520.
MERTENS, V. E., Deutsche med. Wochenschr., **1901**, Nr. 24, S. 381.
MESSINEO & CALMIDA, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 30, 346, **1901**.
METSCHNIKOFF, E., ROUX & TAURELLI-SALIMBENI, Ann. de l'inst. Pasteur, **1896**, p. 257.
METSCHNIKOFF, E., Ann. de l'inst. Pasteur, T. 1, 326, **1887**.
MEYER, Berl. tierärztl. Wochenschr., **1910**, S. 737.
MEYER, F., Berl. klin. Wochenschr., **1910**, Nr. 20, S. 926.
MEYER, K., Biochem. Zeitschr., Bd. 32, 280, **1911**.
MICHAELIS, L., Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden von E. ABDERHALDEN, Bd. 3, S. 1185.
MIESSNER, H., Mitteil. d. Kais.-Wilh.-Inst. f. Landwirtschaft i. Bromberg, Bd. 3, H. 4, S. 207, **1911**.
MILLER, E. C. L., Journ. of inf. diseas., Vol. 8, Nr. 1, p. 50, **1911**.
MIYASHITA, S., Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 9, 552, **1911**.
[1] MOELLER, A., Zeitschr. f. Tub., Bd. 5, 206.
[2] — Münch. med. Wochenschr., **1908**, Nr. 45.
MÖLLERS, B., & HEINEMANN, W., Deutsche med. Wochenschr., **1911**, Nr. 40.
MOLDOVAN, J., Deutsche med. Wochenschr., **1910**, Nr. 52.
MOLL, Hofm. Beiträge, Bd. 2, 344, **1902**.
[1] MORGENROTH, J., Centralbl. f. Bakt., Bd. 26, 349, **1900**.
[2] — Ebenda, Bd. 27, 721, **1900**.
[3] — Berl. klin. Wochenschr., **1904**, S. 526.
MORGENROTH, J., & CARPI, U., Berl. klin. Wochenschr., **1906**, S. 1424.
MORGENROTH, J., & LEVY, R., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 70, S. 69, **1911**.
MOUSSU & MANTOUX, Acad. des Scienc., **1908**.
MUCH, Münch. med. Wochenschr., **1910**, Nr. 20, S. 1093.
[1] MÜLLER, P. TH., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 31, 558.
[2] — Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 1. Abt., Orig., Bd. 5, 587.
[3] — Arch. f. Hyg., Bd. 44, **1902**.
[4] — Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 32, 521, **1902**.
[5] — Wien. klin. Wochenschr., **1904**, Nr. 11.
[6] — Arch. f. Hyg., Bd. 51, 365.
NÉFÉDIEFF, N., Ann. de l'inst. Pasteur, T. 15, p. 17.
NEISSER, M., Allgemeines über bakterielle Antigene, deren Antikörper bakteriolytische, agglutinierende, präzipitierende Eigenschaften aufweisen. KRAUS-LEVADITI, Handbuch, Bd. 1, S. 14.
NEISSER, M., & SHIGA, K., Deutsche med. Wochenschr., **1903**, S. 61.
NEISSER, M., & WECHSBERG, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 36, 299, **1901**.
[1] NEUFELD, F., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 34, 457, **1900**.
[2] — Ebenda, Bd. 44, 161.

NEUFELD, F., & HAENDEL, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Orig., Bd. 3, 162.
NEUFELD, F., & RIMPAU, W., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 51, 293, **1905**.
NICOLLE, M., & TRUCHE, CH., Ann. de l'inst. Pasteur, T. 24, 921, **1910**.
NIKANOROW, P. J., Berl. klin. Wochenschr., **1897**, S. 720.
NITSCH, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Ref., Bd. 37 und 38.
NOCARD & LECLAINCHE, Les maladies microb. des animaux. Paris, Masson & Cie.
NOON, L., Brit. med. journ., Vol. 2, 530, **1909**.
NÖRGAARD, Blackleg in the Unit. St. Report of the Bur. of Anim. Ind., 1898, 1900, 1901.
NOGUCHI, H., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 52, 85.
NOLF, P., Ann. de l'inst. Pasteur, T. 14, 296, **1900**.
[1] NOVOTNY, J., & SCHICK, B., Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 9, 277, **1911**.
[2] — Ebenda, Bd. 5, 688.
[1] OPPENHEIMER, C., Die Fermente und ihre Wirkungen. 3. Aufl. Leipzig **1909/10**.
[2] — Toxine und Antitoxine. Jena **1904**.
OPPENHEIMER, H., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 59, 188.
OTTO, R., Die staatliche Prüfung der Heilsera. Jena, G. Fischer, **1906**. (Arbeiten a. d. K. Inst. f. exper. Ther., Frankfurt a. M., H. 2).
PANISSET, L., Compt. rend. soc. Biol., T. 70, Nr. 16, **1911**.
PASCUCCI, O., Hofmeisters Beiträge, Bd. 6, 543 und 552.
PASCHEN, E., Ueber den Erreger der Variolavaccine. Immunitätsverhältnisse bei Variolavaccine. Handb. d. Immunitätsforsch. von KRAUS-LEVADITI, Ergänzungsbd. 1, **1911**.
[1] PASTEUR, Bull. de l'acad. de méd., **1880**.
[2] — Compt. rend. acad. scienc., **1880**, p. 239, 673, 952.
[3] — Lyssaliteratur s. Bd. 6, Lyssa; ferner HELLER, Die Schutzimpfung gegen Lyssa. Jena **1906**.
PASTEUR, CHAMBERLAND & ROUX, Compt. rend. de l'acad., T. 97, **1881**.
[1] PASTEUR & THUILLIER, Compt. rend. acad. scienc., T. 95, **1882**.
[2] — Compt. rend. acad. de méd., Sér. 2, T. 12, **1883**.
Patentschrift Nr. 223758, Klasse 30h, Gruppe 6. Verfahren für Darstellung wirksamer Tuberkulose-Immunsera. Patent der Farbwerke, vorm. Meister, Lucius & Brüning, Höchst a. M.
PAUL, G., Technik und Methodik der Vaccination. Handb. d. Immunitätsforsch. von KRAUS-LEVADITI, Bd. 1, 587.
PAWLOWSKY, A., & MAKSUTOW, A., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 21, 485, **1896**.
PEARSON, Verhandlungen des VIII. internat. tierärztl. Kongresses, Bd. 3, 100, Budapest **1905**.
[1] PFEIFFER, R., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 11.
[2] — Deutsche med. Wochenschr., **1901**, S. 867 und 891.
[3] — Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Ref., Bd. 40, 705.
PFEIFFER, R., & BESSAU, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 56, 344.
[1] PFEIFFER & FRIEDBERGER, Berl. klin. Wochenschr., **1902**, S. 581.
[2] — — Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 47, Heft 4.
[1] PFEIFFER, R., & KOLLE, W., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 21, 203, 1896.
[2] — — Deutsche med. Wochenschr., **1896**, S. 735.
[1] PFEIFFER, R., & MARX, Deutsche med. Wochenschr., **1898**, Nr. 31, S. 489.
[2] — — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 27, 272, **1898**.
PFEIFFER, R., & WASSERMANN, A., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 14, 46, **1893**.
PHISALIX, Acad. des scienc., 25. Juli **1904**; Münch. med. Wochenschr., **1904**, S. 1718.
PHISALIX & BERTRAND, Compt. rend. acad. scienc., T. 118, 288, **1894**.
[1] PICK, E. P., Darstellung der Antigene. Handbuch d. Immunitätsforsch. von KRAUS-LEVADITI, Bd. 1, 331.
[2] — Hofmeisters Beiträge, Bd. 1, **1902**.
PICK, E. P., & SCHWARZ, O., Biochem. Zeitschr., Bd. 15, 453.
PIWOWAROW, W. P., zitiert nach Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 2. Teil, Ref., Bd. 4, 588, **1911**. (Original in Wratschebnaja Gazeta, 1911, Nr. 16, S. 584.)
PODBELSKY, Ann. de l'inst. Past., T. 12, 433.
POWELL, zitiert nach FRIEDBERGER. Handb. d. Immunitätsforsch. von KRAUS-LEVADITI, Bd. 1, 780. Original in Indian med. Gaz., **1895**, July.
POZERSKI, Compt. rend. soc. Biol., T. 64, Nr. 18, **1908**.
PRAUSNITZ, C., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 59, 434, **1911**.
PREISZ, zitiert nach UHLENHUTH etc. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 27, 512.
PRETI, L., Biochem. Zeitschr., Bd. 4, 6, **1907**.
PRETTNER, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere, Bd. 2, **1907**.
PRÖSCHER, F., Hofmeisters Beiträge, Bd. 1, **1902**.

[1] PUSCARIU, Ann. de l'inst. Pasteur, **1890**, **1894**.
[2] — Arch. des scienc. méd., **1900**.
QUADRONE, C., Gazz. Osp., Vol. 31, 1369—1373, **1910**; Ref. Zeitschr. f. Imm., 2. Teil, Bd. 3, 1178.
[1] RAUBITSCHEK, H., Hämagglutinine pflanzlicher Provenienz und ihre Antikörper. Handb. d. Immunitätsf. von KRAUS-LEVADITI, Ergänzungsbd. 1, 625, **1911**.
[2] — Wien. klin. Wochenschr., **1909**.
RICHET, Sem. méd., **1890**, Nr. 51; **1891**, Nr. 5; **1892**, Nr. 5.
[1] RICKMANN, W., Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk., Bd. 36, 249, **1910**.
[2] — Ebenda, Bd. 33, 371, **1907**.
RIEBE, W., Der Rotlauf der Schweine und seine Wechselbeziehungen zur Schweineseuche. Diss. Berlin, **1911**.
RINTELEN, A., Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 1. Teil, Orig., Bd. 7, 321.
RODET, A., & GALAVIELLE, Compt. rend. soc. Biol., T. 54, 850.
RODET, A., & GUÉCHOFF, Compt. rend. soc. Biol., T. 52, 962.
[1] RÖMER, P. H., Tuberkulosevaccin. KRAUS-LEVADITIS Handbuch, Bd. 1, 932.
[2] Dasselbe, ebenda, Ergänzungsbd. 1, 310, **1911**. Daselbst auch ausführliches Verzeichnis der RÖMERschen Arbeiten.
[3] — Das Tuberkulin in seiner diagnostischen Anwendung bei Tieren. KRAUS-LEVADITIS Handbuch, Bd. 1, 1063, **1908**.
[4] — Beiträge zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 13, S. 1.
[5] — Ebenda, Bd. 12, Heft 1.
[6] — Beiträge zur experimentellen Therapie, H. 7, S. 86.
[1] RÖMER, P., & JOSEPH, Berl. klin. Wochenschr., **1909**, Nr. 28, S. 1300.
[2] — — Beiträge zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 14.
[3] — — Münch. med. Wochenschr., **1909**, Nr. 48, S. 2499 und **1910**, Nr. 5, S. 229.
ROSENTHAL, L., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Ref., Bd. 36, H. 1—3.
ROSENOW, E. C., Journ. of the Amer. Med. Assoc., Vol. 54, 1943, **1910**.
RÖSSLE, R., Arch. f. Hyg., Bd. 54, 1, **1905**.
ROUX, E., Ann. de l'inst. Pasteur, **1898**, S. 785.
ROUX & CHAMBERLAND, Ann. de l'inst. Pasteur, **1887** u. **1888**.
ROUX & MARTIN, Ann. de l'inst. Pasteur, **1894**.
ROWLAND, S., Journ. of Hyg., Vol. 10, 536, **1910**.
RUFFER, M. A., & WILLMORE, J. G., Brit. med. journ., Vol. 2, 1519, **1910**.
[1] RUPPEL, W. G., Die Proteine. Behrings Beiträge zur experimentellen Therapie, Marburg **1900**, Heft 4, S. 91.
[2] — Münch. med. Wochenschr., **1910**, S. 2393.
RUPPEL, W. G., & RICKMANN, W., Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Orig., Bd. 6, Heft 2/3, S. 344.
RUPPIN, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungsmittel, **1902**, Nr. 8.
RUSSEL, F. F., Boston med. and surg. Journ., **1911**, Nr. 1, p. 1.
[1] SACHS, H., Hofmeisters Beitr., Bd. 2, H. 1—3, **1902**.
[2] — Biochem. Centralbl., Bd. 1, **1903**.
[3] — Fortschr. d. Med., Bd. 20, 425, **1902**.
SAIKI, Journ. of Chem., Vol. 3, 395, **1907**.
SALIMBENI, A. T., Choleratoxine und -antitoxine. Handb. d. Immunitätsforsch. von KRAUS-LEVADITI, Ergänzungsbd. 1, 69.
SALMON, Report of the commission of agricult. Washington **1881**, **1882**.
SALUS, Wien. klin. Wochenschr., **1905**, Nr. 25.
v. SANDE, K., Berl. tierärztl. Wochenschr., **1909**, S. 261.
SATA, A., Zeitschr. f. Tub., Bd. 18, H. 1, **1911**.
SCHEWELEFF, zitiert nach Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 2. Teil, Bd. 3, 1085. (Original: Inaug.-Diss., Milit.-med. Akad. St. Petersburg, **1910**.)
SCHILLING, CL., Ueber Immunisierung gegen Protozoenkrankheiten. Handb. d. Immunitätsforsch. von KRAUS-LEVADITI, Bd. 1, 1005.
SCHMIDT, F., Immunisierung gegen Schweinepestbacillen mit Autolysaten, Schüttelextrakten u. Zerreibungsprodukten dies. Bacillen. Inaug.-Diss. Gießen, **1906**.
SCHMIDT, W. A., Biochem. Zeitschr., Bd. 5, 422, **1907**.
SCHMITT, F. M., Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere, Bd. 7, 71, **1910**.
SCHNÜRER, J., Die Serovaccination bei Schweinrotlauf. KRAUS-LEVADITIS Handbuch, Ergänzungsbd. 1, 291, **1911**.
SCHOTTELIUS, Hyg. Rundschau, **1901**, Nr. 3.
SCHÜLLER, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg., **1908**, H. 2 und 3.
[1] SCHURUPOW, J. S., Russky Wratsch, **1909**, Nr. 18 und 19.
[2] — Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 49, 623.
[1] SCHÜTZ, Berl. tierärztl. Wochenschr., **1904**.
[2] — Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk., **1905**.

SCHÜTZ & PFEILER, Arch. f. w. u. pr. Tierheilk., Bd. 38, H. 3, **1912**.
[1]SCHÜTZE, A., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 48, 457.
[2]— Deutsche med. Wochenschr., **1904**, H. 9 und 10.
[3]— Ebenda, **1902**, S. 478.
SCHÜTZE, A., & BERGELL, P., Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 61, 366, **1907**.
SCHÜTZE, A., & BRAUN, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 64, 509, **1907**.
DE SCHWEINITZ & SCHROEDER, Proceed. Amer. Publ. Health. Ass. **1903**, SCHROEDER & COTTON, Rep. Bur. anim. industr. **1903**, p. 65.
SCHWENZER, P., Diss. Erlangen, **1906**.
SCLAVO, A., Rivista crit. di Clin. med., **1905**, Nr. 40; Ref. Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 40, 603, **1907**.
SELTER, H., Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 1. Teil, Bd. 5, 458.
[1]SHIGA, K., Deutsche med. Wochenschr., **1901**, Nr. 43—45.
[2]— Berl. klin. Wochenschr., **1904**, S. 79.
[3]— Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Ref., Bd. 42, 419, **1909**.
SHOUKÉVITCH, Ann. de l'inst. Pasteur, **1910**, p. 728.
SICILIANO, L., Riv. crit. Clin. med., Vol. 10, 265, **1909**.
SIEBER & METALNIKOFF, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 54, **1910**.
SIEGESMUND, K., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 66, 357, **1910**.
SLEESWIJK, J. G., Nederl. Tijdschr. v. Geneesk., **1909**, 2. Hälfte, Nr. 2; zitiert nach Ref. in Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 1, 546 (Ref.).
[1]SMITH, TH., Journ. of med. Research., Vol. 18, 651, **1908**.
[2]— Journ. of exp. Med., Vol. 2, 241, **1902**.
[3]— Journ. of med. Research., Vol. 16, 359, **1907**.
[4]— Journ. exper. Med., Vol. 11, 241, **1909**.
[5]— Journ. of med. Res., Vol. 25, Nr. 1, p. 1, **1911**.
SMITH, TH., & BROWN, H. R., Journ. of med. Res., **1910**, p. 433.
[1]SOBERNHEIM, G., Darstellung der Schutzstoffe und Methoden der Schutzimpfung gegen Milzbrand im Handbuch der Immunitätsf. von KRAUS-LEVADITI, Bd. 1, 877.
[2]— Milzbrandserum. Ebenda, Bd. 2, 498.
[3]— Zeitschr. f. Hyg., Bd. 14, 485, **1893**.
[4]— Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 1. Abt., Bd. 5, 619.
[1]SOBERNHEIM & SELIGMANN, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1. Abt., Orig., Bd. 7, S. 342.
[2]— Ebenda, Bd. 6, 401.
SPRONCK, H., Ann. de l'inst. Pasteur, **1895**, p. 758 und **1898**, p. 701.
STEFFENHAGEN, K., & CLOUGH, PAUL W., Berl. klin. Wochenschr., **1910**, S. 2097.
STEINHARDT, E., Journ. of inf. diseas., Vol. 7, Nr. 5, p. 675, **1910**.
v. STENITZER, Biochem. Zeitschr., Bd. 9, 382, **1908**.
STERNBERG, C., Wien. klin. Wochenschr., **1908**, S. 709.
STRAUSS, J., Arch. de méd. exp. et de l'anat. path., **1892**, p. 298.
[1]STUMPF, L., Münch. med. Wochenschr., **1901**.
[2]— Hyg. Rundschau, **1906**, Nr. 23 und 24.
SULIMA, A., Ann. de l'inst. Pasteur, T. 23, 911, **1909**.
SÜPFLE, K., & EISNER, G., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 60, 298.
TALLQUIST, T. W., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 58, 165, **1907**.
TAMAMCHEFF, zitiert nach FRIEDBERGER, in KRAUS-LEVADITI, Handbuch, Bd. 1, S. 786. Original: HAFFKINE, Indian med. gaz., **1896**, July.
TAVEL, KRUMBEIN & GLÜCKSMANN, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, 239, **1902**.
TCHITCHKINE, Ann. de l'inst. Pasteur, **1905**.
TEICHMANN, E., & BRAUN, H., Arch. f. Protistenkunde, Bd. 22, 351.
TERNI & BANDI, Deutsche med. Wochenschr., **1900**, S. 463.
TERRE, Ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, 200.
THOMAS, La vacc. d. l. charb. sympt. Repertoire de police sanitaire, **1900**, p. 31.
THOMASSEN, Verhandlungen des 8. internat. tierärztl. Kongresses in Budapest, Bd. 1, 434, **1905**.
THÖNI, J., Mitteil. a. d. Geb. d. Lebensmitteluntersuch. u. Hyg., Bd. 2, H. 2, **1911**.
TITZE, Tuberkulosearbeiten a. d. Kais. Ges.-Amt, **1908**, Heft 9, S. 50.
TIZZONI & CENTANNI, Berl. klin. Wochenschr., **1894**.
TOMARKIN, E., & SEREBRENIKOFF, N., Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg., Bd. 14, 428, **1910**.
TOUSSAINT, Compt. rend. de l'acad., T. 91, **1880**.
TRIGLIA, P., & MAZZUOLI, G., Clin. med. Italiana, **1906**, Nr. 2. Ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 40, 604, **1907**.
TSUZUKI, M., Zeitschr. f. Immunitätsf., 1. Teil, Bd. 4, 194.
[1]UHLENHUTH, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Ref., Bd. 42, Beilage, S. 62. (Zweite Tagung d. fr. Ver. f. Mikrobiol.)

[2] UHLENHUTH, 5. Mikrobiol.-Tagung, Dresden. Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 50, Beilage, S. 177.
[3] — Deutsche med. Wochenschr., **1900**, S. 734.
UHLENHUTH, P., & HAENDEL, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Orig., Bd. 4, 796.
UHLENHUTH, P., & HÜBENER, E., Schweinepest im Handbuch der Immunitätsf. von KRAUS-LEVADITI, Bd. 2, 542.
UHLENHUTH, HÜBENER, XYLANDER, BOHTZ, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 27, 425, **1908**.
UHLENHUTH, P., & WEIDANZ, O., Prakt. Anleitung z. Ausführung der biolog. Eiweiß-Differenzierungsverfahren. Jena, G. Fischer, **1909**.
UHLENHUTH & XYLANDER, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 32, 158, **1909**.
VAILLARD, Ann. de l'inst. Pasteur, **1892**, p. 224.
VALLÉE, Ann. de l'inst. Pasteur, T. 23, 585, **1909**.
VALLET, G., & RIMBAUD, L., Compt. rend. soc. Biol., T. 68, p. 302.
[1] VINCENT, H., Sem. méd., **1910**, Nr. 25.
[2] — Compt. rend. Ac. sc., T. 150, Fasc. 6, p. 355, **1910**, sowie Fasc. 8, p. 482.
VINCENT, H., & COLLIGNON, Compt. rend. soc. Biol., T. 69, Nr. 34, **1910**.
VOGES, O., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 22, 515.
VOGES & SCHÜTZ, Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk., Bd. 24, **1898**, sowie Deutsche tierärztl. Wochenschr., **1899**.
[1] VOIGT, L., Monatsh. f. prakt. Dermat., Bd. 40, **1905**.
[2] — Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere, Bd. 6, H. 2, S. 101.
[3] — Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk., Bd. 35, H. 3, S. 295, **1909**.
DE WAELE, H., Centralbl. f. Bakt. 1. Abt., Orig., Bd. 42, 636 u. 760, **1906**.
DE WAELE & SUGG, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 39, **1905**.
DE WAELE & VAN DE VELDE, Biochem. Zeitschr., Bd. 9, 264, **1908**.
WARRINGSHOLZ, Berl. tierärztl. Wochenschr., **1909**, Nr. 8, S. 155.
[1] WASSERMANN, A., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 14, S. 35, **1893**.
[2] — Festschrift zum 60. Geburtstage von R. KOCH. Jena, G. Fischer, S. 527.
[3] — Verfahren zur Herstellung von zur lokalen Immunisierung und Heilung erkrankter Gewebsteile dienenden Stoffe. Patentschrift, Nr. 229 131, Klasse 30h, Gruppe 6. Ferner Patentschrift 229 355, sowie Patentschrift 231 110 derselben Klasse und Gruppe.
WASSERMANN, A., & CITRON, J., Deutsche med. Wochenschr., **1905**, S. 1101.
WASSERMANN, A., & LEDERMANN, R., Med. Klinik, **1911**, Nr. 13, S. 479.
[1] WASSERMANN, A., & LEUCHS, Klin. Jahrb., Bd. 19, H. 3, **1908**.
[2] — — Die Methoden der Schutzimpfung der Menschen gegen Pest. Im Handb. der Immunitätsf. von KRAUS-LEVADITI, Bd. 1, 797.
WASSERMANN, M., & SEITZ, A., Deutsche med. Wochenschr., **1908**, Nr. 50, S. 2175.
WEAWER & TUNICLIFF, Journ. of infect. diseases, **1908**.
[1] WEBER, A., & TITZE, Tuberkulose-Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, **1907**, H. 7, S. 1.
[2] — — Ebenda, **1908**, H. 9, S. 1.
[3] — — Ebenda, **1910**, Heft 10, Mitteil. 3 und 4.
WEBER, A., TITZE, SCHÜTZ & HOLLAND, Tuberkulose-Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, 1908, H. 9, S. 27.
[1] WEIL, E., Wien. klin. Wochenschr., **1905**, Nr. 16.
[2] — Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, 121, **1906**.
[3] — Deutsche med. Wochenschr., **1906**, S. 382.
[4] — Arch. f. Hyg., Bd. 52, 412, **1905**.
[1] WEIL, E., & BRAUN, H., Folia serolog., Vol. 2, 156, **1909**.
[2] — — Biochem. Zeitschr., Bd. 17, 337, **1909**.
WENDELSTADT, H., Arch. intern. de pharmacodyn. et de thér., T. 9, 407, **1901**.
WENDELSTADT & FELLMER, T., Zeitschr. f. Immunitätsf., 1. Abt., Orig., Bd. 8, 43.
WIECHOWSKI, W., Hofmeisters Beiträge, Bd. 9, 240, **1907**.
WOLF, K., Münch. med. Wochenschr., **1908**, Nr. 6.
WOOLDBRIDGE, Du Bois-Reymonds Arch., **1881**, S. 387.
WRIGHT, Kurze Abhandlung über Antityphusinokulation. Jena **1906**.
WYRSIKOWSKY, Arch. f. vet. Med., Petersburg **1891**.
WYSSOKOWITZ, M., & ZABOLOTNY, Ann. de l'inst. Pasteur, **1897**, p. 663.
YABÉ TATSUSABURO, L'étude de l'immunité de la tuberculose. Paris **1900**.
YERSIN, CALMETTE, BORREL, Ann. de l'inst. Pasteur, **1895**.
YOSHIDA, E., Arch. f. Hyg., Bd. 69, S. 21, **1909**.
ZEUNER, W., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 50, S. 95 und Zeitschr. f. Tub., Bd. 15, **1909**.
ZEITLIN, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 36, S. 24, **1905**.

II.

Methoden der Antikörperdarstellung.

Von

Prof. **Martin Ficker**
Berlin.

Mit 4 Figuren im Text.

Abgeschlossen am 1. Februar 1912

Das wissenschaftliche Streben, in die Natur der Antikörper vorzudringen, hat schon bald nach Entdeckung des Antitoxins, das als erster Antikörper bekannt wurde, die Forscher erfüllt. Aber auch noch praktische Gesichtspunkte trieben dazu an, die Rohdarstellung zu vervollkommnen und womöglich die Antikörper rein und in konzentrierter Form zu gewinnen. Für die Verwendung von Schutz- und Heilseris muß die Konzentrierung einer großen Zahl von Werteinheiten auf ein kleines Volumen sowie die Beseitigung unnötiger oder gar schädigender Begleitstoffe auch heute noch das Ziel sein. Die Forschungen über Serumkrankheit und Ueberempfindlichkeiten lassen diese wichtige Frage erneuter Bearbeitung wert erscheinen. Auch für rein wissenschaftliche Probleme ist die Tatsache oft genug störend, daß wir für die mit den Antikörpern vorzunehmenden Reaktionen lediglich über Rohmaterialien verfügen. Es muß darauf ausgegangen werden, auch bei der mannigfachen Verwendung der Antikörper im Laboratorium alle nicht spezifischen Stoffe, unter denen sicher auch Hemmungsstoffe sich finden, auszuschalten und die Spezifität zu verschärfen: es sei nur hingewiesen auf die Agglutinine, Präzipitine, komplementbindenden Antikörper usf.: hier müssen noch wesentliche Fortschritte erwartet werden, wenn wir reine Antikörper in die Reaktionen eintreten lassen, in erster Linie dürfte die Diagnostik damit eine Verfeinerung und Erweiterung erfahren.

Die Darstellung der Antikörper nimmt den Ausgang entweder von dem Blut oder den Organen des natürlich oder künstlich immunisierten Körpers. Da erfahrungsgemäß das Serum — mit wenigen Ausnahmen — den stärksten Antikörpergehalt aufweist und der Immunkörpergehalt durch künstliche Verabreichung von Antigen über das bei der natürlichen Immunität zu findende Maß eine Steigerung zu erfahren pflegt, so sind für die Darstellung der Antikörper in erster Linie die Seren der künstlich immunisierten Versuchstiere

zur Verwendung gekommen, wobei der Gang der Immunisierung den im vorhergehenden Abschnitt entwickelten Grundsätzen folgte.

Für die Darstellung bestimmter Antikörper gilt es von vornherein zielbewußt vorzugehen. Man wird zwar zunächst darnach trachten, eine Grundimmunität bei einem geeigneten Tier zu gewinnen, so daß für manche Fälle es gewiß nicht so sehr darauf ankommt, schon von vornherein den richtigen Applikationsmodus oder das Antigen in der für den speziellen Fall vorteilhaftesten Beschaffenheit anzuwenden, als vielmehr, vorerst den Organismus für die Weiterbehandlung vorzubereiten. Es hat sich aber bei näheren Untersuchungen herausgestellt, daß die Antikörperkurven doch schon sehr bald weitgehend divergieren können, so daß es rationell erscheinen muß, die durch die Erfahrung gebotene Art der Immunisierung für die Gewinnung bestimmter Antikörper sofort oder wenigstens so früh wie möglich zu wählen.

Am zahlreichsten sind die vergleichenden Beobachtungen über Agglutinine und Bakteriolysine: die beiden Kurven brauchen durchaus nicht zusammenzugehen (Beispiele: Cholera und Typhus, Kaninchen, FRIEDBERGER; Typhus, Mensch, HETSCH & KUTSCHER). Das gleiche gilt für Agglutinine und Opsonine (Beispiel: LIEB, Typus bovinus bei Kaninchen), komplementbindende Antikörper und Bakteriolysin (Beispiel: TORREY, Gonokokkenimmunisierung, Kaninchen, intraperitoneal), schützende Antikörper und Präzipitin, Beispiel: die Milzbrandschutz- und -heilseren enthalten nur selten ein Präzipitin, zu dessen Erzeugung größere Mengen von Bakterien zu verwenden sind (ASCOLI, SCHÜTZ & PFEILER). Andere Beispiele sind in dem Abschnitte Methoden der aktiven Immunisierung aufgeführt.

Disposition.

A. Allgemeines.
- I. Auswahl der Impftiere.
- II. Blutentnahme.
- III. Zeitpunkt der Blutentnahme.
- IV. Einfluß der Blutentnahme.
- V. Konservierung der Antikörper.
- VI. Konzentrierung der Antikörper.

B. Reindarstellung von Antikörpern.
- I. Antitoxine.
  - a) Aus Blut oder Serum.
  - b) Aus Milch.
- II. Phytoantitoxine.
- III. Antihämotoxine.
- IV. Antifermente.
- V. Bakteriolysine.
- VI. Hämolysine.
- VII. Agglutinine.
- VIII. Präzipitine.
- IX. Komplementbindende Antikörper.

Darstellung von Antikörpern aus Blutplasma und Leukocyten.
Darstellung von Antikörpern aus Organen.

A. Allgemeines.

I. Auswahl der Impftiere zur Antikörpergewinnung.

Die Auswahl richtet sich zunächst nach der Art der Antikörper, die man gewinnen will, sowie nach der Art und Beschaffenheit des verfügbaren Antigens. Das bevorzugte Versuchstier ist das Kaninchen, das die verschiedensten Antikörper liefert: Bakteriolysine, Hämolysine, Agglutinine, Präzipitine usf. Man muß aber darauf gefaßt sein, daß die Antikörperbildung je nach Rasse und Individualität verschieden verläuft, besonders ist hervorzuheben, daß manche Kaninchen für die Präzipitingewinnung versagen oder nur minderwertige Sera liefern. Hunde scheinen überhaupt keine Präzipitine liefern zu können, auch ist ihr Serum meist stark opaleszent, so daß es für die Präzipitinreaktion sich nicht eignet. Pferde, Esel, Ziegen und Schafe bilden im allgemeinen keine hochwertigen Präzipitine, wenigstens keine sehr stark wirksamen Eiweißpräzipitine. Auch die Meerschweinchen gelten als wenig geeignete Präzipitinlieferanten (hingegen ist von ihnen ein Hämolysin gegen Kaninchenblut leicht zu gewinnen).

Ein gut präzipitierendes Milzbrandserum ist von Kaninchen nur sehr selten zu erhalten (Ascoli, Schütz & Pfeiler), auch von Schafen nur ausnahmsweise, vielmehr scheint der Esel hierfür das geeignetste Tier zu sein, er ist auch widerstandsfähiger gegen Milzbrand als das Schaf.

Für die Gewinnung von spezifischen Agglutininen ist bei der Tierauswahl zu berücksichtigen, ob die Tiere zur Bildung von Gruppenagglutininen geneigt sind: bei Immunisierung von Pferden mit den verschiedenen Typen der Dysenteriebacillen ist das nach Shiga in hohem Maße der Fall, diese Seren sind weniger brauchbar zur Identifizierung. Auch die Ziegenimmunseren fand Shiga nicht geeignet, hingegen zeichneten sich die Kaninchenimmunseren durch weitgehende Spezifität aus.

Zur Herstellung von Antikokkenserum (Streptokokken, Pneumo-, Meningo-, Gonokokken) sollen Maultiere und Maulesel besser verwendbar sein als Pferde, Esel, Schafe, Ziegen, Rinder: die subkutanen und intravenösen Einspritzungen werden besser vertragen (ohne Abszeßbildung usf.), auch sollen sich die bei Maultieren und Mauleseln gewonnenen hochwertigen Antikörper nicht nur gegen den zur Vorbehandlung benutzten Stamm richten. (Patent der Höchster Farbwerke vom 18. Juli 1908. Patentschrift Nr. 210024, Klasse 30h, Gruppe 6.)

Besonders wirksame Antikörper gegen die menschliche Infektion mit Strepto-, Pneumo-, Gono- und Meningokokken sollen bei der Immunisierung von Affen gewonnen werden. (W. Zangenmeister, Patent Nr. 200252 vom 18. April 1907 nebst Zusatz Nr. 210023, Klasse 30h, Gruppe 6.)

Nach den Untersuchungen von Uhlenhuth-Hübener-Xylander-Bohtz ist von Eseln, Pferden, Rindern, Kaninchen unter Variierung der verschiedenen Modi der Applikation von virulentem Schweinepestvirus ein Serum mit schützender oder heilender Wirkung nicht zu erhalten, wohl aber von Schweinen. Dasselbe bestätigen Hutyra & Wetzl, die auch Rinder als ungeeignet zur Serumgewinnung fanden.

Der Satz, daß zur Heil- und Immunserumgewinnung nur empfängliche Tiere verwendbar seien, hat sich nicht als allgemein gültig erwiesen: so ist das für Rotlauf nicht empfängliche Pferd sehr geeignet zur Rotlaufserumgewinnung, ebenso zur Gewinnung eines Serums gegen Maul- und Klauenseuche der Schweine und Schafe (F. Löffler), hingegen ist das gleiche Serum für Rinder weniger brauchbar (nach Löffler deshalb, weil es als artfremdes Serum zu schnell ausgeschieden wird, für die Immunkörpergewinnung zum Zweck der passiven Immunisierung sowie der Serumtherapie bei Rindern und Kälbern verwendet Löffler das Rind).

Für die Auswahl der Impftiere ist auch die Empfindlichkeit der Tiere maßgebend. Ziegen vertragen die Zufuhr von Dysenteriebacillen besser als die sehr empfindlichen Pferde.

Kaltblüter wurden sehr selten zur Antikörpergewinnung benutzt, nach Noguchi & Lazar kann man bei Schildkröten und Fröschen Hämolysine erzeugen, im übrigen gelten sie als ungeeignet. Vgl. die Ausführungen bei den einzelnen Antikörpern.

Daß auch nach Auswahl geeigneter Tiere für die Darstellung bestimmter Antikörper die Resultate verschieden ausfallen, je nach dem Applikationsmodus, nach Beschaffenheit des Antigens (virulent oder avirulent, Vollbakterien oder Extrakte, abgetötete oder lebende Bakterien usf.), dafür sind in dem vorhergehenden Abschnitt Beispiele angeführt.

II. Blutentnahme.

1. Blutentnahme aus der Ohrvene des Kaninchens. Die Entnahme von Blut aus der Ohrvene läßt sich am leichtesten bewerkstelligen, wenn man zur Vorbehandlung langohrige und nicht zu dickfellige Kaninchen auswählt. Man kommt bei der Entnahme ohne Gehilfen aus, wenn man die Kaninchen in dem v. Michelschen Kaninchenbehälter*) unterbringt.

In der Regel wählt man die Randvene für die Entnahme aus, man schneidet mit scharfer Schere an einer nicht zu distal gelegenen Stelle die Haare ab (soll bei den Tieren eine mehrmalige Blutentnahme erfolgen, so wählt man die Entnahmestelle mehr distal), reinigt im Umkreis das Fell mit Alkohol. Einen stärkeren Blutzulauf erhält man, wenn man mit einem in sehr heißes Wasser eingetauchten Wattebausch oder Tuch das Fell an der Ohrwurzel bedeckt. Das gleiche erreicht man durch mechanische Reizung (Reiben, Schlagen des Ohrs mit Finger oder dgl.), auch Bestrahlen mit elektrischer Glühbirne, Annäherung des Paquelins usf. wird empfohlen. Am besten bedient man sich wohl des Xylols: reibt man den Ohrlappen mit xyloldurchtränktem (nicht zu viel Xylol!) Wattebausch ab, so erhält man stets eine starke Hyperämie, zur Entfernung des Xylols von der Blutentnahmestelle ist diese mit sterilem Wattebausch (der eventuell schwach mit Alkohol befeuchtet ist) zu behandeln. Man kann das Blut der Randvene noch weiterhin durch eine Klemme anstauen. — Nach diesen Vorbereitungen schneidet man mit oberflächlichem Schnitt das Fell quer über der Vene durch, das nun freiliegende Gefäß wird mittels eines zweiten Schnittes mit scharfer Schere oder mit scharfem Messer angeschnitten. Für eine reichlichere Entnahme ist ein Längsschnitt noch geeigneter. Man läßt das Blut in sterile Zentrifugengläser, sterile Reagenzgläser, Erlenmeyer oder dgl. einlaufen. Stockt der Zulauf, so liegt das meist an der eintretenden Koagulation an der Einschnittstelle, die man dann mehrmals durch Abwischen mittels sterilen Wattebausches von dem Koagulum zu befreien hat. Verschluß der Blutungsstelle durch Kompression mit Wattebausch oder Klemme. —

---

*) Dieser Behälter trägt auch den Namen von Malassez.

2. Für die Präzipitingewinnung wird auch die Entnahme aus der mittleren Ohrarterie empfohlen. Das aus diesem Blut gewonnene Serum soll meist weniger hämoglobinhaltig sein.

Man sucht die Arterie auf (Blutanstauung durch Druck an der Ohrspitze) und schneidet mit scharfer Schere durch. Die Methode liefert das Blut rascher, ist aber unbequemer, da man das Blutstillen durch Umstechen vorzunehmen hat.

Sorgt man bei der Blutentnahme aus der Ohrvene für einen genügend großen Einschnitt, so erfolgt die Blutgewinnung auch ziemlich rasch und dann ist auch Hämoglobinlösung nicht zu befürchten.

3. Soll bei Meerschweinchen, Kaninchen, Hunden usf. die Blutentnahme völlig keimfrei erfolgen, ohne daß das Tier zugrunde geht, so pflegt man eine Carotis freizupräparieren. (Methoden sind beschrieben bei Th. Madsen, Friedemann, P. Th. Müller, Heim). Auch die Blutentnahme direkt aus dem Herzen (Aspiration mittels Spritze oder Einstich einer Kanüle oder der kapillären Spritze eines Glasrohres [Hartglas], das am unteren Ende stumpfwinklig gebogen ist, Einstich an der Stelle des stärksten Spitzenstoßes, s. S. 133) kann z. B. bei Meerschweinchen, Kaninchen ohne Schädigung des Tieres ein keimfreies Serum liefern.

4. Bei Hunden und Ziegen stößt die Entnahme aus der V. jugularis externa auf keine größeren Schwierigkeiten:

Man komprimiert zentral das Gefäß nach Entfernung der Haare (Rasieren) und Desinfektion der Haut, Einstoßen eines Troikarts, oder besser einer nicht zu engen Punktionshohlnadel, die eventuell mit sterilem Gummischlauch und Glasrohr verbunden ist.

5. Kommt es nicht darauf an, die Tiere am Leben zu lassen, so ist keimfreies Blut am einfachsten durch Entbluten in die Brusthöhle zu erreichen. Diese Methode ist für Ratten von Kuprianow beschrieben, später von Uhlenhuth für Blutentnahme bei Kaninchen verbessert worden:

Man bringt das Tier auf ein Operationsbrett und chloroformiert tief. Brust- und Bauchfläche werden mit Alkohol befeuchtet. Durchtrennung der Weichteile mittels Längsschnittes, Freilegen des Brustkorbes, Entfernen der vorderen Brustwand. Anschneiden des Herzens mittels steriler Schere bei den letzten schwachen Schlägen des Herzens, Entbluten in die Brusthöhle. Aufsaugen des Blutes mittels steriler Pipette mit weitem Auslauf, Uebertragen in sterilen Glaszylinder (Maßzylinder oder dgl.). Kaninchen liefern auf diese Weise 70—110 ccm Blut, Ratten nach Kuprianow ca. 3 ccm. Diese Entblutung in die Pleura ist als allgemeine Methode namentlich bei kleinen Versuchstieren (auch Mäusen) empfehlenswert, sie liefert relativ große Serumquantitäten.

6. Man kann die vollständige Entblutung auch von der Carotis (schließlich Druck auf Thorax und Abdomen) oder von den an der Innenseite des Oberschenkels verlaufenden Gefäßen aus vornehmen:

Nach Morgenroth präpariert man an den narkotisierten, straff horizontal gehaltenen Tieren (Hund, Kaninchen, Meerschweinchen, Ratte) die Haut der Schenkelbeuge ab und durchtrennt Arteria und Vena femoralis zugleich, man läßt das Blut in das Gefäß unter dem Schutze des Bindegewebes einlaufen.

7. Die Blutentnahme bei Geflügel erfolgt meist aus den Flügelvenen, bei Gänsen und Enten auch durch Einschnitt in die Schwimmhaut.

8. Für die Entnahme kleiner Quantitäten Blutes (auch vom Menschen) sind zu empfehlen:

a) Die Methode von Czaplewski-Schottelius.

Kleine Zentrifugenspitzgläschen (Höhe 5,5 cm, Durchmesser 0,8 cm, im unteren Teil 0,4 cm) sind mit Korkstopfen versehen, der von einer Metallnadel durchbohrt ist. Diese trägt am unteren Ende einen Tupfer aus entfetteter Watte. Man läßt die Watte mit einigen Blutstropfen sich vollsaugen, setzt alsbald den Korkstopfen fest auf das Gläschen auf und erhält durch Zentrifugieren eine nicht unerhebliche Serummenge, die sich noch steigern läßt, wenn man vor Aufsetzen des Korkes den blutgefüllten Wattebausch ausquetscht und das Blut in das Zentrifugengläschen eintropfen läßt, Aufsetzen des Stopfens usf.

b) Aufsaugen des Blutes mit Glaskapillaren, entweder mit geraden oder mit den Neisser-Pröscherschen U-förmig gekrümmten.

Man läßt die Kapillaren an den Enden etwas ausziehen, die Mündungen dürfen aber nicht zu eng sein; beim Hervorquellen von Blut berührt man dies mit der einen Kapillarmündung unter Nachabwärtshalten des U-förmigen Teiles. Danach Zentrifugieren der Kapillaren (falls dabei der Blutkuchen sich nicht genügend zusammengezogen hat, geht man mit dünner Platinnadel ein, lockert und zentrifugiert nochmals). Durchschneiden der Kapillaren mit Glasschneidemesser, Eingießen der Serumsäule in Kapillarpipette, die mit Auslaufmündung schräg nach oben zu halten ist. Nach einiger Uebung ist das Mitübertragen von Luftbläschen leicht zu vermeiden.

Aehnlich ist die U-förmige Pipette von Stäubli, die in verschiedenen Größen — auch zur Entnahme größerer Quantitäten — angefertigt werden kann.

Die gerade 0,5 ccm fassende Glaskapillare W. Meyers ist aus Hartglas gefertigt und beiderseits mit schräg abgeschnittenen scharfen Enden zum Einstechen versehen.

c) Blutentnahme nach Wright, s. Bd. 3 bei Opsoninen.

9. Will man beim Menschen größere Serummengen gewinnen (zur Antikörperprüfung), so wählt man die Venenpunktion (Ellbogenbeuge, Vena mediana) oder Anwendung von Schröpfapparaten, z. B. den Heurteloupschen Schröpfer, Schröpfköpfe mit Sauger, Modifikationen der Bier-Klappschen Sauger (Gummipumpe: Apparat von Sormani; Sauger von Schuberg-Mulzer [für kleine Serummengen wird Glockendurchmesser von 8 mm empfohlen] oder Wasserstrahlsauger); oder Ansatz mit Hartgummispritze nach Rubinstein usf.).

Vgl. im übrigen Bd. I, S. 462, Methoden des Nachweises der Bakterien im Körper, ferner im Handbuch der physiologischen Methodik von R. Tigerstedt, Bd. II, Abt. 1, Beitrag von Bürker (Gewinnung etc. des Hämoglobins S. 68).

10. Serumgewinnung bei größeren Tieren s. diesen Band, Heller-Krumbein.

Zur Abscheidung des Serums geht man verschieden vor, je nachdem man das Serum bald nach der Blutentnahme oder erst am nächsten Tage gewinnen will.

Am schnellsten erhält man das Serum, wenn man das Blut in Zentrifugengläser einlaufen läßt, bis sie etwa halb voll sind. Dann wartet man, bis das Blut fest geronnen ist, löst den Blutkuchen mit Platindraht, Spatel oder Glasstab von der Glaswand ab und zentrifugiert scharf. Das Ablösen des Blutkuchens empfiehlt sich auch, wenn man das Serum nicht durch Zentrifugieren, sondern nach Spontanabscheidung gewinnen will, man hält die Gläser dann im Kühlen (kühles Zimmer, Keller, Eisschrank). — Nach den Beobachtungen mancher Autoren soll die Serumabscheidung reichlicher erfolgen, wenn man das Blut erst bei Zimmertemperatur und dann im Eisschrank aufbewahrt.

Bessere Serumabscheidung erfolgt, wenn man die Oberfläche vergrößert (Schräglegen der Glaszylinder, Reagenzgläser, Erlen-

meyer, Bechergläser, oder man fängt das Blut in flachen Behältern auf: Uhrglas, Petrischale). Es empfiehlt sich, Gläser mit schräg erstarrtem Blutkuchen nach einigen Stunden aufrecht zu stellen. Mitunter ist schon reichliche Serumabscheidung nach mehreren Stunden Stehens erfolgt, in der Regel wartet man bis zum nächsten Tag, gießt ab und entfernt beigemengte Blutkörperchen durch Zentrifugieren. Den fein zerstückelten Blutkuchen kann man nochmals in die Kälte stellen, um noch weiteres Serum zu gewinnen, das läßt sich auch durch Zentrifugieren eventuell nach vorherigem Auspressen erreichen.

Große Serumausbeute geben die Apparate nach Latapie: Prinzip der Oberflächenvergrößerung, ferner nach Spronck: Prinzip der Blutkuchenbelastung. Das letztere Prinzip kann man auch ohne besondere Apparate anwenden, man belastet die Blutkuchen mit einem sterilen, das Lumen des Glasgefäßes nicht völlig ausfüllenden Gewichte oder man benutzt perforierte Zinnklötze.

Apparate für die Serumgewinnung.

1. Apparat von Latapie. Der Apparat besteht aus zwei ineinander geschobenen Glasröhren *A* und *B*, die mittels des Gummischlauches *C* miteinander verbunden sind; das schmälere Glas *A* stellt ein gewöhnliches Reagenzglas dar, das an dem geschlossenen Teil zu einer recht- oder stumpfwinkelig verlaufenden Spitze ausgezogen und hier zugeschmolzen ist. Das größere Glas *B* ist etwa

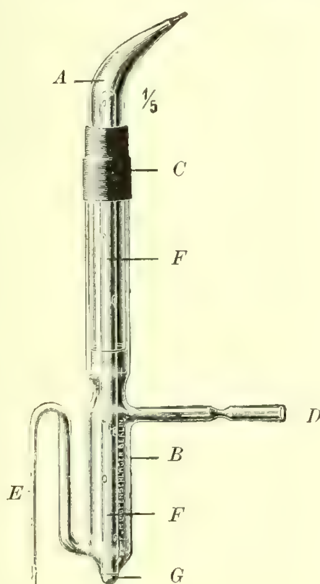


Fig. 1.

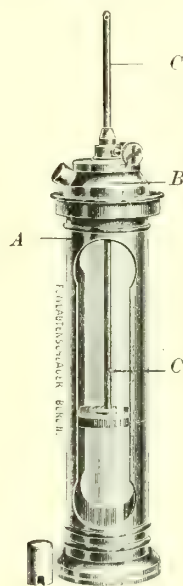


Fig. 2.

Fig. 1. Apparat zur Serumgewinnung nach Latapie.
Fig. 2. Apparat zur Serumgewinnung nach Spronck.

in der Mitte eingeschnürt, es hat 2 seitliche Ansätze: der Ansatz *D* ist offen, der S-förmig nach unten gebogene Ansatz *E* verjüngt sich zu einer zugeschmolzenen Spitze. Im Innern der ineinander gestülpten Gläser findet sich ein oben abgeschmolzenes, unten offenes Glasrohr *F*, das eine größere Anzahl seitlich alternierender Löcher führt. Sterilisation des ganzen Apparates bei 120°.

Zur Füllung des Apparates wird (z. B. bei Kaninchen) die Carotis freipräpariert, peripher unterbunden, zentral durch eine Arterienklemme verschlossen; zwischen Ligatur und Klemme führt man das nochmals in der Flamme sterilisierte und danach mittels Pinzette eröffnete spitze Ende der Röhre *A* in das Gefäß zentralwärts ein und befestigt mit Schlinge. Oeffnet man die Klemme, so steigt das Blut in der Röhre *A* hoch, man schließt die Klemme noch bevor *A* völlig gefüllt ist und schmilzt die ausgezogene Spitze von *A* (unter gleichzeitigem leichten Saugen bei *D*) ab. Läßt man den Apparat mit der Spitze nach unten stehen, so legt sich das Koagulum um die Röhre *F*, die Retraktion von der Glaswand *A* kann man vervollständigen durch Saugen bei *D*. — Nach vollständiger Erstarrung des Blutes dreht man den Apparat um; das Serum sammelt sich in *B* an, etwa beigemengte Blutkörperchen sedimentieren nach dem am unteren Ende der Glasröhre *B* befindlichen verjüngten Ansatz *G*. Nach Oeffnen des Rohransatzes *E* (Abbrechen der abgesengten Spitze) kann man durch Blasen bei *D* das Serum überleiten.

Der Apparat ermöglicht die aseptische Gewinnung von 80 Proz. der Gesamtmenge Serum.

2. Der Apparat*) von SPRONCK besteht aus einem Messingzylinder *A*, in welchen ein Glasgefäß eingestellt wird. Auf den oberen Rand des Messingzylinders wird der mit 3 Oeffnungen versehene Metalldeckel *B* aufgesetzt; die mittlere Oeffnung wird von einer mit Stellschraube versehenen Druckstange *C* durchbohrt, die an ihrem unteren Ende einen perforierten runden Stempel (Druckscheibe) trägt. Man läßt das Blut mittels Glasrohres, das mit einem Gummischlauch versehen ist, durch eine seitliche Oeffnung des Deckels einfließen; nach Gerinnung des Blutes wird der Blutkuchen durch Abwärtsschieben des Druckstempels zusammengepreßt. Außerdem kann die Druckstange noch mit einem Gewicht beschwert werden. Das Serum kann durch eine Deckelöffnung abgehebert werden. — Die Serumausbeute beträgt 60—70 Proz.

Die Serumausbeute nach spontaner Gerinnung des Blutes ist meist eine größere als die durch Zentrifugieren des defibrinierten Blutes erhaltene. Ueber Defibrinieren s. S. 112.

Für manche Zwecke, wie z. B. zur Anstellung der Schichtprobe bei Präzipitinversuchen, müssen die Seren absolut klar sein. Die Filtration, auch durch Berkefeld oder Porzellan, vermag nicht immer die zu Irrtümern Anlaß gebende Opaleszenz zu beseitigen.

Zur Vermeidung dieser Störung empfiehlt es sich, die Tiere vor der Blutentnahme mehrere Stunden oder, wie andere empfehlen, einen Tag lang hungern zu lassen. Auch wird das sofortige scharfe Zentrifugieren empfohlen. Mitunter aber versagen diese Methoden.

III. Zeitpunkt der Blutentnahme.

Man wartet in der Regel 7—10 Tage nach der letzten Injektion bis zur Blutentnahme, am empfehlenswertesten ist wohl im allgemeinen die Entnahme am 9. oder 10. Tag. Bei subkutaner Antigenverabreichung wird man jedenfalls besser tun, einige (2—3) Tage länger zu warten als nach intraperitonealer und namentlich intravenöser Applikation: bei letzterem Modus ist das Maximum fast stets eher erreicht.

Die Länge dieser Wartezeit findet ihre Begründung in den Antikörperkurven, die von zahlreichen Forschern ermittelt sind so von BRIEGER & EHRLICH (Tetanusantitoxin), PFEIFFER & MARX (Bakteriolysin bei Typhus und Cholera), SALOMONSEN & MADSEN (Diphtherieantitoxin) u. a., Literatur bei MADSEN.

In manchen Fällen ist das Maximum des Antikörpergehaltes eher zu erwarten (Antilab nach Injektion von Lab bei Ziegen schon

*) Lieferant J. F. HAHN, Utrecht, Vondelkade 9.

nach drei Tagen, Morgenroth), in anderen erst später: Kraus & Russ fanden bei Kaninchen nach subkutaner Injektion von El-Tor-Hämotoxin den Antikörper am reichlichsten zwischen 12. und 14. Tag; Tallquist bei intravenöser Injektion — ebenfalls an Kaninchen — von Vibriolysin (Vibrio Nasik) zwischen 19. und 23. Tag (Anstieg des Antilysins erst am 9.—10. Tag). Hintze erhielt nach einmaliger intravenöser Injektion von 5 ccm Pferdeserum bei Kaninchen den Höchstgehalt an Präzipitin nach 13 Tagen. Bei Menschen ist, wie Hamburger & Moro feststellten, dieser, ebenfalls nach Zufuhr von Pferdeserum, zeitigstens am 16. Tag zu erwarten. Isolysine (bei der Ziege) entstehen nach Ehrlich & Morgenroth erst am 15. Tage, das Maximum des Antitoxins bei Diphtherie ist nach Salomonsen & Madsen am 16. Tag, bei Botulinus zwischen 15. und 17. Tag, bei Tetanus am 17.—18. Tag zu finden.

Es ist zwar zu berücksichtigen, daß bei Reinjektion des Antigens die Kurven einen anderen Verlauf nehmen als bei einmaliger: aber der Charakter der Kurven bleibt im großen und ganzen der gleiche, das Maximum tritt etwas früher ein. Da nun aber die einzelnen Tiere nicht immer in genau derselben Weise reagieren und u. a. auch das Antigen, das bei Wiederholungen früherer Versuche nicht immer die gleiche Beschaffenheit zeigt, die Kurve beeinflussen kann, so sind durch die in der Literatur niedergelegten Kurven der Immunkörperbildung für die günstigste Zeit der Blutentnahme nur ganz allgemein die Richtlinien gezogen: im speziellen Fall wird man daher tägliche Entnahmen zur Titerbestimmung vorziehen, wozu ja sehr kleine Portionen ausreichen.

Es ist festgestellt, daß der Antikörpergehalt des Blutes nicht nur bei Entnahme an mehreren Tagen sich vermindert, sondern auch während ein und derselben Entnahme Schwankungen aufweist. Bei den Diphtherieantitoxin liefernden Pferden wird die Blutentnahme innerhalb von 6 Tagen nach der ersten Entnahme noch dreimal wiederholt, man erhält bei der vierten Entnahme oft eine Verminderung des anfänglichen Antitoxingehaltes von 25 Proz. und mehr. Auch für die Präzipitingewinnung wird diese fraktionierte Blutentnahme z. B. von Leers empfohlen, der, sobald die Probeentnahme einen hohen Titer ergibt, nach 24-stündigem Hungern aus der Ohrarterie ca. 50 ccm entnimmt, dann 1 Tag reichlich füttert, sodann wieder einen Tag hungern läßt und ca. 40 ccm entnimmt, abermals Fütterung, Hungernlassen und Entbluten. Die Einzelportionen der Entnahmen zeigten sich gleichwertig. Nach diesem Verfahren gewinnt man also eine erhebliche Menge Antiserum. Für die Hämolysingewinnung redet H. Sachs der einmaligen Entnahme großer Mengen das Wort.

Für den Termin der Blutentnahme ist auch mitbestimmend, wie lange das Antigen in dem vorbehandelten Organismus erhalten bleibt.

Bei Präzipitinen ist ein gleichzeitiges Vorhandensein von Präzipitinogen unerwünscht. Es fanden Uhlenhuth das artfremde, intravenös injizierte Pferdeserum (5 ccm) bei Kaninchen noch am 15. Tage, Hintze bis zum 12. Tage, derselbe Autor Dotter nach einmaliger Injektion von 10 ccm einer 50-proz. Dotterlösung bis zum 5. Tage in der Blutbahn kreisend (Versuchstier: Kaninchen). Unter Verwendung der anaphylaktischen Methode zum Nachweis des injizierten Antigens — an Stelle der Präzipitations- oder Komplementbindungs-Methode — fand Hintze das sensibilisierende Pferdeserum mindestens bis zum 16. Tage, den sensibilisierenden Dotter bis zum 14. Tage. Bei subkutaner Be-

handlung von Kranken mit Scharlach- und Diphtherieserum (200 ccm) wiesen Hamburger & Moro das fremde Serum bis längstens zum 31. Tage nach. Das Bakterienpräzipitinogen scheint schneller zu verschwinden, so haben Schütz und Pfeiler für die Gewinnung von Milzbrandpräzipitin gezeigt, daß das Antigen (große Mengen von Milzbrandbacillen bei hochimmunisierten Tieren) schon am nächsten Tage auf keine Weise mehr im Blute der Tiere nachzuweisen ist.

Ob der Vorgang der „Autopräzipitation" des Serums der vorbehandelten Organismen mit der Anwesenheit von Antigen in Zusammenhang zu bringen ist, bleibt fraglich, da ja auch normales Serum beim Aufbewahren Bodensatz liefert.

Die Blutentnahme zum Zweck der Gewinnung von Heil- und Schutzseren wird man dann besonders nicht zu früh vornehmen dürfen, wenn das Antigen toxische Eigenschaften besitzt oder lebende Krankheitserreger enthält; es könnte sonst das Serum Reste des Antigens erhalten. (Schutz gegen Krankheitserreger siehe Konservierung). Vgl. hierzu auch S. 26, 28, 32.

Wieviel Injektionen der Blutentnahme vorauszugehen haben, wenn man hochwirksame Antikörper erhalten will, darüber lassen sich allgemeine Angaben nicht machen, es sei hier verwiesen auf den Abschnitt: Methoden der aktiven Immunisierung. Auf jeden Fall sind hierbei von Zeit zu Zeit Probeentnahmen nötig. Hervorzuheben ist, daß es durchaus nicht immer aussichtslos ist, Tiere, die nach mehrmaliger Vorbehandlung geringwertige Seren liefern, weiter zu behandeln: unter Umständen, die wir noch nicht kennen, sind diese bei weiterer Antigenverabreichung imstande, sogar extrem hochwertige Antikörper schließlich noch zu liefern. Vgl. hierzu die Versuche von Schütz & Pfeiler zur Milzbrandpräzipitingewinnung. Sisoff erhielt beim Rind durch Injektion von virulenten Hühnercholerakulturen ein sehr wirksames Schutz- und Heilserum erst nach über 2 Jahre ausgedehnter Vorbehandlung.

IV. Einfluß der Blutentnahme.

Der Einfluß des Aderlasses bei einem immunisierten Tier kann sich sehr verschieden äußern: er kann zu einer dauernden Verminderung des Antikörpergehaltes führen, und das ist die Regel. Es kann aber auch zu einer Restitution der Antikörper kommen, in wenigen Fällen ist sogar ihre Erhöhung beobachtet.

Von Einfluß ist das Stadium der Immunität, in welchem sich der Organismus befindet. Diese Frage ist aber noch nicht genügend bearbeitet und manche in der Literatur niedergelegte Beobachtung über den Einfluß der Blutentnahme darf gerade deshalb nicht zu weiteren Schlüssen verwertet werden, weil die Blutentnahme willkürlich an einem nicht näher bekannten Punkte der Immunitätskurve erfolgte. Entnimmt man Blut in der negativen Phase, im Stadium des Antikörperanstiegs oder in dem des weiteren Abfalls oder des Gleichgewichtszustandes, so wird der Aderlaß verschiedene Folgen haben, die sich natürlich in erster Linie nach der Größe des Blutverlustes und dem Allgemeinzustand der Tiere richten. Eine Frage für sich ist die erneute Antikörperbildung nach weiterer Antigenzufuhr, hier ist auch der Zeitpunkt der Reinjektion zu berücksichtigen. Auch diese Frage ist noch nicht so umfassend bearbeitet worden, daß allgemein gültige Gesetze aufzustellen sind.

Für Präzipitin ist von Rostoski beobachtet worden, daß es von Kaninchen nach großem Blutverlust nicht wieder ersetzt wird: unterläßt man dann die Reinjektion, so geht der Titer schließlich ganz herunter. Etwas langsamer erfolgt dieser Rückgang bei Kaninchen, wenn kleinere Dosen Blut (8—10 ccm) entnommen werden.

Diese Entnahme kleiner Blutmengen wirkt nach verschiedenen Beobachtungen günstig auf die weitere Präzipitinproduktion, wenn dasselbe Antigen alsbald weiter verabreicht wird (Leers).

Daß teilweise ein Wiederersatz nach Aderlaß erfolgt, ist u. a. von Roux & Vaillard für Tetanusantitoxin (beim Pferd), von Salomonsen & Madsen für Diphtherieantitoxin beobachtet: die letzteren Autoren fanden nach Entnahme von 7 l Blut bei einem Pferde zunächst ein Absinken, dann aber wieder ein Ansteigen des Antitoxins, das aber hinter der anfänglichen Höhe zurücktrat. Aehnliche Beobachtungen stellten dieselben Autoren bei einer Ziege nach stärkster Blutentnahme und nach Ersatz durch normales Ziegenblut an. Nach Beobachtungen von Dreyer & Schröder (zitiert bei Madsen) kann nach Blutentnahme während der der Akme folgenden Phase des Antikörpergehaltes und durch weitere Aderlässe die Antikörperkurve ansteigen und den Akmewert übersteigen.

Nachdem von Friedberger beobachtet worden war, daß kleine Aderlässe die Bildung bakteriolytischer Choleraambozeptoren steigern, hat Dorner für die Hämolysinproduktion diese Frage näher studiert; er behandelte Kaninchen mit minimalen Mengen von Ziegenblutkörperchen vor, Aderlaß (10—20 ccm) erfolgte vorher, in anderen Versuchen nachher. Es zeigte sich, daß die Aderlaßtiere einen viermal höheren hämolytischen Titer aufwiesen als die in gleicher Weise mit Erythrocyten vorbehandelten Kontrolltiere. Der Einfluß des Aderlasses scheint nach den Versuchsprotokollen Dorners stärker (d. h. die Antikörperbildung begünstigend) zu sein, wenn die Antigenzufuhr ein oder 2 Tage vor dem Aderlaß erfolgte. Das größere Aderlässe den entgegengesetzten Effekt auch bei der Hämolysinbildung haben, ist mehrfach nachgewiesen. Hierher gehören auch einige Versuche von Lüdke (Rinderblutinjektion bei Kaninchen, vom 10. Tag ab täglich oder alle 2 Tage Blutentnahme [10—35 ccm], erhebliches Absinken erfolgte erst vom 26. Tage nach der Einspritzung).

V. Konservierung der Antikörper.

Für die Aufbewahrung der Antikörper wird der Satz gelten müssen, daß, wenn irgend möglich, die Zugabe von Konservierungsmitteln überhaupt zu vermeiden ist und daß die aseptische Gewinnung und Aufbewahrung vorzuziehen sind. Man wird auch mit Hinblick auf die bedeutend sicherere Wirkung mancher Antitoxine nach intravenöser Einverleibung (Diphtherieheilserum) wünschen müssen, daß Heil- und Schutzseren auch ohne antiseptische Zusätze geliefert werden. Die üblichen Phenol- oder Trikresolzusätze sind ein Hindernis für die Injektion in die Gefäße. Auch sind erfahrungsgemäß alle Konservierungszusätze nicht indifferent für die Antikörper: wählt man wiederum eine zu niedrige Konzentration, die die Antikörper nicht verändern würde, so ist die Zurückhaltung des Keimwachstums eine unsichere.

Es ist aber unrichtig zu glauben, daß das aseptisch gewonnene und aufbewahrte Serum unveränderlich sei: auch hier erfolgt Abnahme des Antikörpergehaltes, so daß es in manchen Fällen der Zugabe von Konservierungsstoffen gewiß unentschieden bleiben muß, ob die Verminderung auf Rechnung des Konservierungsmittels zu setzen oder der natürlicherweise im Serum auftretenden Veränderung zuzuschreiben ist. Das aseptisch aufbewahrte sterile Serum zeigt nach

mehr oder weniger langer Zeit einen Bodensatz und nimmt saure Reaktion an (Globulinniederschlag infolge der Wirkung von Aminosäuren, die aus dem Serumeiweiß durch — autolytische? — Fermente abgespalten werden, s. van Calcar).

1. Aseptische Aufbewahrung.

Ist das keimfrei gewonnene Serum abgeschieden, so wird es z. B. mittels steriler Pipetten in sterile Glasgefäße übertragen: hierzu eignen sich Reagenzgläser verschiedener Größe, die man zuschmilzt oder, wenn die Antikörper nicht allzulange aufgehoben werden sollen, mit Wattestopfen verschließt. Man kann auch kleine Arzneifläschchen mit Watte-, Kork- oder Gummistopfenverschluß wählen, eine Methode, die besonders bei der Aufbewahrung der mit Konservierungszusatz versehenen Seren verwendet wird (eventuell Dichtung mit Paraffin oder Siegellack). Korke keimfrei zu machen gelingt nicht in jedem Falle, man verwendet daher besser Gummistopfen beim Aufbewahren der Antikörper oder man schmilzt, wie erwähnt, die Glasgefäße zu. Man sollte auch auf die Qualität des Glases achten und wird Jenaer Glas bevorzugen müssen.

Es empfiehlt sich im allgemeinen, größere Volumina von Serum nicht im ganzen, sondern verteilt auf kleinere Gefäße aufzuheben, gerade deshalb ist aber auch auf die Glasqualität Rücksicht zu nehmen, da das Serum nunmehr mit einer größeren Glasfläche in Kontakt steht. Man füllt die Gefäße so weit wie möglich, um den Luftraum auf das kleinste Maß zu beschränken.

Für die aseptische Aufbewahrung von Präzipitinen haben sich die mit kapillaren Oeffnungen versehenen Glasröhrchen Nuttalls, ferner nach Uhlenhuth braune Röhrchen von ca. 12 cm Länge und 0,7 cm Durchmesser, die nach Füllung zuzuschmelzen sind, bewährt. Leers empfiehlt 15 cm lange, in der Mitte kuglig aufgetriebene Kapillaren: diese sowie die Nuttallschen Röhrchen haben den Vorteil, daß etwa auftretende Ausfällungen sich gut sedimentieren und durch Abschneiden des spitzen Röhrchenendes leicht zu entfernen sind. Sie sind aber leicht zerbrechlich und daher schwer transportabel.

Erfahrungsgemäß werden die Antikörper am besten geschützt, wenn man bei ihrer Aufbewahrung Luft, Licht und Wärme von ihnen fernhält. Es unterscheiden sich die dabei anzuwendenden Methoden nicht von den bei Konservierung der Antigene aufgezählten, s. S. 155. Zu erwähnen ist, daß manche Autoren die Aufbewahrung im Eisschrank bevorzugen, bei Konservierung im eingefrorenen Zustande sollen die Seren mitunter Trübungen und stärkere Salzbildung aufweisen (das kommt aber im Eisschrank auch vor).

Füllt man das einmal geklärte Serum in sterile Gläser über, so findet in der Regel eine weitere Ausfällung nicht statt.

Es scheint, daß die Haltbarkeit mancher Antikörper bei aseptischer Aufbewahrung unter der gewöhnlichen Zimmertemperatur fast ebensowenig leidet wie bei Eisschranktemperatur. Wichtiger ist der Schutz vor Belichtung. (Sachs-Müke, Typhusagglutinin in Menschenseris.) Bei Aufbewahrung im Zimmer sollen nach Sachs-Müke die Nebenagglutinine eher verschwinden. Für das Diphtherietoxin ist von J. T. Anderson in vergleichenden Versuchen festgestellt, daß es bei Zimmertemperatur im Jahr durchschnittlich 20 Proz. seines Schutzwertes, bei 15° etwa 10 Proz., bei 5° nur etwa 6 Proz. verliert: Diese Verluste sind etwa die gleichen wie die des nach Gibson konzentrierten Antitoxins.

2. Konservierung der Antikörper durch Trocknung.

1. Die vollkommenste Methode der Serumkonservierung durch Trocknung ist die für die Antitoxinaufbewahrung (Diphtherie- und Tetanusstandard) von P. Ehrlich angegebene.

Die nativen, zusatzfreien Sera werden in abgemessenen Mengen in die Serumröhrchen *a* übertragen (s. Fig. 3) und im Exsikkator über Nacht vorgetrocknet. (Bei Konservierung fertiger Trockensera wird eine abgewogene Menge in die Röhrchen *a* eingegeben.) Danach wird Röhrchen *a* an die Verbindungsröhre *c* und diese letztere wiederum an das phosphorsäureanhydridhaltige Kölbchen *b* angeschmolzen. Die freie Oeffnung *d* des Verbindungsrohres *c* wird zur weiteren Evakuierung an eine Quecksilberluftpumpe (bei Zimmertemperatur) angeschlossen (Aneinanderreihung einer Serie von Apparaten s. Fig. 4). Dadurch wird der im Trockenserum bis zu 10 Proz. befindliche Wasserrest sowie der Sauerstoff entfernt. Schließlich Abschmelzen bei *d*. Die Röhrchen verbleiben dann noch eine Zeit unter dem Einfluß des Phosphorsäureanhydrids, bis dieses Feuchtigkeit nicht mehr aufnimmt: das durch Klopfen aufgeschüttelte Anhydrid bleibt dann unverändert; ist dieser Zeitpunkt erreicht, so wird bei *e* abgeschmolzen. Die Serumröhrchen werden dann im Dunkeln und Kühlen aufbewahrt.

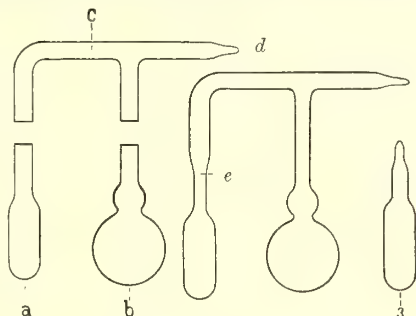


Fig. 3. Ehrlichs Serumkonservierungsmethode.

2. Ueber weitere Methoden der Trocknung im Vakuum oder im Luftstrom usf. s. S. 122, 156, sowie Bd. I. Die Herstellung der

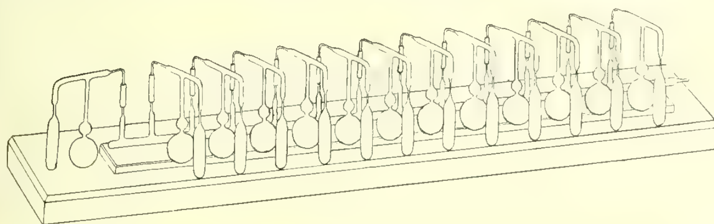


Fig. 4. Apparat zu Ehrlichs Serumkonservierungsmethode.

Trockensera wird namentlich für die Konservierung von Agglutininen und Bakteriolysinen angewandt. Wichtig dabei ist, daß die Trocknung bei nicht zu hoher Temperatur stattfindet, nach dem Vorgange von Kolle & Wassermann wählt man meist die Temperatur von 27—30°, Kolle trocknet die Choleraagglutinine bei ca. 35°. Leider nimmt nach mehr oder weniger langer Zeit die Löslichkeit ab. Die Bestände sind alle 6—9 Monate zu erneuern. Diese Abnahme erfolgt langsamer, wenn die Aufbewahrungsgläser evakuiert sind; meist erhält man auch keine völlig klare Lösung, aus diesem Grunde vermeidet man die Methode zur Konservierung von Präzipitinen. Auch für die komplementbindenden spezifischen Antikörper scheint die Trockenkonservierung nicht besonders geeignet zu sein (s. Krumbein & Schatiloff, Meningokokkenserum). Wie leistungsfähig z. B. bei Antitoxinen die Trocknungsmethode sein

kann, zeigte ANDERSON, der trockenes Diphtherieantitoxin bei 5° C im Dunkeln aufbewahrt mindestens $5^1/_2$ Jahr lang wirksam fand. Für Tetanusantitoxin wird aber angegeben (Prospekt der Höchster Farbwerke), daß die Trockenkonservierung vor der Aufbewahrung des flüssigen Präparates nichts voraus habe, auch im Trockenantitoxin erfolgt eine Abschwächung, die allerdings durch Evakuieren der Aufbewahrungsgefäße sich etwas hinausschieben läßt.

3. Antrocknung an Papier.

Nachdem W. RICHARDSON empfohlen hatte, Typhuspatientenserum zur Identifizierung von Typhusbacillen auf Fließpapier anzutrocknen, hat E. JACOBSTHAL zur Konservierung von Tierimmunseren (Agglutininen und Präzipitinen) die Methode unter Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse ausgearbeitet. Er empfiehlt Fließpapier Nr. 571 von SCHLEICHER & SCHÜLL, Auftropfen abgemessener Quantität, Trocknen bei 37° oder dgl. Aufbewahren im Exsikkator oder im trocknen Raume, Lichtschutz. Für Präzipitine ist diese Methode von OTTOLENGHI, v. EISLER, BERESTNEFF u. a. geprüft. v. EISLER[1] empfiehlt schwarzes Papier (Naturpapier), durch Vorversuche ist festzustellen, ob das Papier (in der Beobachtungszeit von 20 Minuten) nicht zu viel Farbe abgibt. Man nimmt Stückchen von 1 qcm, die mit 0,1 ccm Präzipitin betropft werden. Trocknung 2—4 Stunden bei 37°, Aufbewahrung im Exsikkator, Kühlen und Dunkeln. — Auch bei der Antrocknung an Papier tritt schließlich Abschwächung des Titers und Verminderung der Löslichkeit ein, genauere Angaben fehlen, doch darf man mit einer Haltbarkeit von mehreren Monaten, vielleicht bis zu 10 Monaten rechnen.

4. Antrocknung an Würfelzucker nach LÖFFLER.

Serum wird auf Würfelzucker aufgetropft, Trocknenlassen einige Tage bei Zimmertemperatur, Aufbewahren im Exsikkator. Die vollständige Löslichkeit bleibt fast 1 Jahr erhalten.

5. Trocknung durch Bindung des Wassers an Glaubersalz.

Das Verfahren zur Serum- oder Organbreitrocknung von S. FRÄNKEL & A. ELFER beruht darauf, dem Serum oder Organbrei bei gewöhnlicher Zimmertemperatur soviel geglühtes Glaubersalz zuzusetzen, als notwendig ist, um die gesamte Wassermenge als Kristallwasser an das Glaubersalz zu binden. Da sich das wasserfreie Glaubersalz während des Vorganges leicht mit kristallisiertem, wasserhaltigem Glaubersalz überziehen kann, so wird 10 Proz. mehr Glaubersalz als der Berechnung entspricht, zugesetzt.

Beispiel: 1 kg Rinderserum enthält 913,64 g Wasser. 142 Teile geglühtes Glaubersalz vermögen 180 Teile Wasser zu binden, es wären mithin 610 g geglühtes Glaubersalz nötig, zugesetzt werden ca. 670 g. Der Zusatz erfolgt in kleinen Mengen unter stetem Reiben in einer Porzellanreibschale. Es resultiert ein steifer Brei, der in 1—2 Stunden zu einer festen Kristallmasse erstarrt, die im Stahlmörser fein gepulvert wird. Die Verfahren der Trocknung im Vakuum oder im FAUSTschen Apparat haben den Nachteil, daß damit ein unverändertes, wasserfreies Präparat nicht erhalten wird. Bei dem vorliegenden Verfahren wird die Temperaturerhöhung vermieden, das Serumwasser nicht entfernt, sondern an eine andere Substanz gebunden.

Die FRÄNKELsche Glaubersalzmethode ist von STÖKEL zur Konservierung von Antikörpern (und Eiweißantigenen) benutzt worden, sie eignet sich nach den bisherigen Mitteilungen für Agglutinine und hämolytische Ambozeptoren. Zusatz von 0,7—1 g geglühten Glaubersalzes zu 1 ccm Immunserum.

Beispiel: 10 ccm Choleraserum werden in steriler Porzellanabdampfschale unter stetem Umrühren mit einem Glasstab mit sorgfältig geglühtem Natriumsulfat in allmählich steigenden Mengen versetzt, bis die Masse eine breiige Konsistenz besitzt. Danach wird noch weiter gründlich gemischt, um das An-

kleben der Kristallmasse an die Wände zu verhindern. Nach 24 Stunden werden die krümeligen Massen in steriler Reibschale zu einem feinen Pulver zerrieben; das Gesamtgewicht betrug 17,57 g. 1 ccm Ausgangsserum = 1,75 g Trockenpulver. Im Bedarfsfalle werden 1,75 g in 100 ccm Aq. dest. aufgelöst = Serumverdünnung 1:100 (die Lösung entspricht in ihrem Salzgehalt der üblichen Kochsalzlösung), zur weiteren Verdünnung ist physiologische Kochsalzlösung zu benutzen.

Die Aufbewahrung des Pulvers geschieht in dunkeln, weithalsigen Gläsern mit eingeschliffenen Stöpseln an einem trockenen Orte. Der Titer hat sich bisher als konstant erwiesen.

Präzipitine durch Glaubersalz zu konservieren empfiehlt sich nicht, da diese ja in unverdünntem Zustande zu der Präzipitinogenlösung zugesetzt werden, es würden hypertonische Lösungen entstehen, in denen nach Doerr & Russ das Präzipitationsphänomen wesentlich langsamer in die Erscheinung tritt.

6. Die Firma Merck besitzt das Patent für ein Verfahren der Herstellung dauernd haltbarer Trockensera (Heil- und Schutzsera); diese werden fein zermahlen und in sterilem Oel (z. B. Olivenöl) aufgeschwemmt, das Oel hindert den Luftzutritt. 10-proz. Suspensionen werden bei Injektion gut vertragen und resorbiert. Diese Methode empfiehlt sich für die jahrelange Aufbewahrung z. B. von Tetanus-, Botulinus-, Schlangengiftantitoxin usf. (Patentschr. Nr. 233693, Klasse 30h, Gruppe 6, 22. Oktober 1910).

Besteht Verdacht, daß das gewonnene Serum nicht bakterienfrei ist, so wendet man entweder die Filtration an oder man erwärmt das Serum oder endlich man versucht, durch Zusatz von Antisepticis das Verderben hintanzuhalten.

3. Filtration.

Die keimfreie Filtration ist beschrieben in Bd. I, S. 537. Man muß damit rechnen, daß bei der Filtration der Antikörpergehalt sich vermindert, die einzelnen Filtersorten, aber auch die verschiedenen Filter desselben Typs verhalten sich dabei verschieden. Sicher ist, daß die Antikörpereinbuße mit fortschreitender Filtration größer wird.

Im allgemeinen gilt der Satz, daß Toxine die Filter leichter passieren als Antitoxine. Die von Martin & Cherry benutzten Gelatinefilter (das sind Pasteur-Chamberlandsche Kerzen, die mit Gelatine imprägniert sind) ließen Diphtherietoxin hindurch, nicht aber das Antitoxin.

Ein Unterschied ergibt sich ferner beim Filtrieren von verdünntem und unverdünntem Serum: je stärker man ein Serum mit Kochsalzlösung verdünnt, um so größer ist der Antikörperverlust beim Filtrieren (für Rotz-, Typhus-, Paratyphus-, Ruhr-Agglutinin und andere Antikörper bei Filtration durch Kieselgur im Büchnerschen Trichter bewiesen von P. Andrejew), die geringste Einbuße zeigen die Filtrate konzentrierter Seren.

4. Erwärmen.

Das Erwärmen der antikörperhaltigen Seren zum Zweck der Inaktivierung hat den gleichzeitigen Vorteil, daß von verunreinigenden Bakterien bestimmte Arten vernichtet werden, erfahrungsgemäß genügt in vielen Fällen schon die Inaktivierungstemperatur, das Serum haltbar zu machen. (Methode des Pasteurschen Instituts, Erwärmen auf 60°, eine Temperatur, die zwar Ambozeptoren nicht schädigt,

aber z. B. die komplementbindenden Antikörper des Meningokokkenserums nach Krumbein & Schatiloff wesentlich vermindert). Bis zu welchen Temperaturhöhen man gehen darf, ist bei den einzelnen Antikörpern nachzulesen.

In manchen Fällen muß das Erwärmen sogar wünschenswert erscheinen, es unterdrückt z. B. die Umsetzungen autolytischer Natur. Nach Schütz & Pfeiler zeigte das auf 56° $^1/_2$—1 Stunde erwärmte Milzbrandpräzipitin eine Abnahme an nicht spezifisch wirkendem Präzipitin.

L. Michaelis empfiehlt für Aufbewahrung hitzebeständiger Antikörper (Präzipitine): Abfüllen der sauber entnommenen Seren auf sterile Reagenzgläser, Zuschmelzen, Erwärmen an drei aufeinanderfolgenden Tagen $^1/_4$ Stunde lang im Wasserbad von 52—53°, Eisschrank. Angebrochene Gläser werden durch Einfrieren konserviert.

Ueber chemische Veränderungen bei der üblichen Inaktivierungsmethode s. Moll, S. 225.

5. Konservierungszusätze.

1. Karbolsäure.

Sie ist das verbreitetste Zusatzmittel. Man wählt 0,3 bis 0,5 Proz. Meist geht man von einer 5-proz. Phenollösung aus und setzt hiervon 1 Teil zu 9 Teilen Serum. Der Zusatz hat zur Vermeidung von Niederschlägen, die den Antikörpergehalt herabmindern, unter stetem Schütteln tropfenweise zu geschehen. Ist die damit gegebene Verdünnung des Serums unerwünscht und gibt man konzentriertere Phenollösung zu, so entstehen weißliche Trübungen, die nach mehrtägigem Stehenlassen mittels Filtration durch Papier zu entfernen sind. Ob die damit erfolgende Reduktion an Antikörpern nicht noch erheblicher als die durch das Verdünnen bedingte ist, bleibt fraglich.

Die Phenolkonservierung wird mit Vorteil angewendet bei Bakteriolysinen, Hämolysinen, Agglutininen, Antitoxinen.

Für die Konservierung von Heil- und Immunserum hat die Zugabe von 0,5 Proz. Phenol auch den Vorteil, daß sie die Uebertragung von Rotz verhütet: etwaige Rotzbacillen des Pferdeserums werden damit nach Bonhoffs Untersuchungen innerhalb von 24 Stunden unschädlich gemacht.

Die Antitoxinkonservierung durch Phenol (0,5 Proz.) ist selbst unter schwierigen äußeren Bedingungen eine ausreichende: Martin fand Tetanusheilserum nach $1^1/_4$-jähriger Aufbewahrung in den Tropen noch wirksam und R. Otto stellte genau quantitativ fest, daß Diphtherieheilserum nach ein- und zweijähriger Aufbewahrung an Bord von Schiffen im Mittelmeer und China den vollen Wirkungswert besaß.

Für die Präzipitinkonservierung redet Uhlenhuth neuerdings der Karbolsäure nicht das Wort. Eine Zeitlang aber (mehrere Monate) schwächt der Zusatz von 0,5 Proz. das Präzipitin nicht oder nur wenig ab. Schüller empfiehlt Zusatz von 1-proz. Karbolkochsalzlösung (1 Karbol, 0,8 NaCl, 99 Aqua) zu gleichen Teilen, andere empfehlen 1 Teil dieser Lösung zu 9 Teilen Präzipitin. Leers benutzt eine 3-proz. Karbolkochsalzlösung (3 Karbol, 0,85 NaCl, 97 Aqu.), von der er 1 Teil zu 20 Teilen Präzipitin zusetzt.

Bei der mit 0,5 Proz. Karbolsäure erfolgten Konservierung von agglutinierenden Seren der Enteritisbakterien konnten SOBERNHEIM & SELIGMANN feststellen, daß gewöhnlich die Agglutinine zunächst etwas abnahmen, bald aber den ursprünglichen Titer wieder erreichten. Bei verschiedenen Seren (z. B. Gärtnerseren) zeigten sich sogar Titersteigerungen.

Daß Karbolsäure in der üblichen Konzentration auch ein vorzügliches Mittel zur Konservierung der Tropine darstellt, zeigten NEUFELD & HÄNDEL[1] (Meningokokkenserum, Aufbewahrung im Eisschrank, s. NEUFELD).

Bei HÄNDEL & HÜNE findet sich eine Notiz, daß nach Zusatz von Karbol menschliche Sera (von Kranken, auch von Luetikern) allein, d. h. ohne Antigen, stärker ablenken können als vorher. Ob auch bei tierischen Seris das Ablenkungsphänomen durch Karbol beeinflußt wird, bedarf der Bearbeitung, vorläufig ist sichergestellt, daß die spezifisch komplementbindenden Antikörper im Meningokokkenserum durch Karbolzusatz geschädigt werden (KRUMBEIN & SCHATILOFF).

Für die Konservierung agglutinierender Seren (Cholera, Paratyphus, Ruhr; gewonnen von Kaninchen, Eseln, Ziege) empfehlen HÄNDEL & HÜNE den Zusatz von 10 Proz. einer Karbolglyzerinlösung (5,5 Acid. carbolic., 20,0 Glyzerin ad 100 Aqu. dest.).

Einzelne Seren ergaben danach Trübung oder Niederschlag, wodurch ein Wertigkeitsverlust aber nicht auftrat. Aufbewahrung im Eisschrank in Glasflaschen mit Kork oder Glasstöpsel. Die Titer blieben 3—5 Jahre lang in brauchbarer Höhe, Hemmungszonen wurden nicht beobachtet, nur in seltenen Fällen (zwei Typhussera, ein Paratyphusserum) trat nach längerer Aufbewahrung ($^3/_4$ Jahr) neben geringer Abschwächung des Titers eine Verzögerung der Agglutination in Serumverdünnungen mittlerer Konzentration auf. Ein erheblicherer Agglutininrückgang konnte nur bei einem Choleraimmunserum (gewonnen von Kaninchen nach einmaliger Vorbehandlung) beobachtet werden (nachweislich keine Agglutinoïdbildung). Im übrigen hielten sich auch die Cholerasera bei diesem Konservierungszusatz jahrelang, auch die bakteriolytischen. Zur Konservierung von Präzipitin eignet sich nach WEIDANZ Karbolglyzerin ebensowenig wie Karbol allein.

2. Trikresol.

Zusatz von 0,4 Proz., z. B. zu Antitoxinen (Diphtherie, Tetanus); für Präzipitine von NUTTALL angewendet.

3. Chloroform.

Chloroform konserviert verschiedene Antikörper, man wählt meist Zusatz von 1 Proz. Für die Konservierung der Präzipitine stört die auftretende Trübung, die ausfallenden Stoffe setzen sich aber alsbald ab, das obenstehende klare Präzipitin ist nach BIONDI sowie UHLENHUTH mehrere Monate brauchbar.

4. Aether

wird in neuerer Zeit häufiger zur Konservierung benutzt. Nach PFEIFFER & PROSKAUER verliert bakteriolytisches Immunserum durch Aether seine Wirkung, E. PRIBRAM konnte aber bei einem Choleraimmunserum vom Pferd nach 10 Stunden langem Schütteln mit gleichen Teilen Aether eine Abnahme der bakteriziden Wirkung nicht wahrnehmen. Auch Diphtherie- und Tetanusantitoxin sind gegen Aether gut widerstandsfähig (Versuche von PRIBRAM, ferner E. P. PICK & SCHWARZ).

Ottolenghi konserviert Präzipitin durch Zusatz von 4 Proz. Aether.

5. Glyzerin

findet selten Verwendung, am ehesten noch (nach dem Vorgange Ehrlichs bei Antigenen) in Verbindung mit Kochsalz. Löffler gibt an, daß Präzipitine nach Zugabe von 20 Proz. Glyzerin und 0,9 Proz. NaCl ihre Wirkung behielten, der Präzipitationsvorgang wurde aber dadurch verlangsamt und das Präzipitin abgeschwächt (Diskussionsbemerkung 2. Tagung der Fr. V. f. Mikrobiologie, Berlin 1908). Die Höchster Farbwerke geben dem (mit 0,5 Proz. Karbol konservierten) Diphtherieheilserum einen geringen Zusatz von Glyzerin, um das Gefrieren bei Winterkälte zu verhindern.

6. Formaldehyd

schädigt alle Antikörper rasch und stark, selbst wenn sie sich im Trockenzustand befinden.

7. Nach J. Schnürer hat sich als Konservierungsmittel für Rotlaufserum das Baktoform bewährt, eine Paraformseifenverbindung mit einem Gehalt von 37 Proz. Formaldehyd. Er verwendet 1 Baktoform auf 1000 Serum.

8. Chinosol

hat sich wegen seiner geringen antiseptischen Fähigkeiten nach Prettner nicht zur Konservierung (von Rotlaufserum) bewährt, hingegen rühmt derselbe Autor

9. das Diaphtherin,

das um die Hälfte weniger Eiweiß ausfällt als Karbolsäure, die Giftigkeit des Präparates ist die gleiche wie die der Karbolsäure.

VI. Konzentrierung der Antikörper.

Lorenz sah sich schon genötigt, die verschiedene Wertigkeit der durch aktive Immunisierung von Schweinen gewonnenen Sera dadurch auszugleichen, daß er sie mischte oder konzentrierte: er versetzte das Serum mit konzentrierter Chlorcalciumlösung, ließ längere Zeit stehen und fällte fraktioniert mit Ammonsulfat. Mit der ersten Fällung kam es zur Ausscheidung der das „Antitoxin" schädigenden Stoffe, die zweite Fällung enthielt die wertvollen Schutzstoffe, sie wurde auf Tontellern zur Trockne gebracht und schließlich aufgelöst (in einer Mischung von Wasser, Glyzerin, Natrium salicylicum und Ac. carbolic.). (D. R.-P. Nr. 103588, Klasse 45. Mit Zusatz Nr. 133267, Klasse 30h.) Die Verwendung von hochwertigem Pferdeimmunserum hat diese Konzentrierung des Schweineimmunserums überflüssig gemacht.

Bujwid benutzte das Einfrieren zum Konzentrieren der Antikörper: läßt man Heilserum z. B. in einer Flasche einfrieren und dann allmählich auftauen, so erhält man eine obere farblose, fast antikörperfreie Wasserschicht, die untere Schicht ist gelb und enthält das Antitoxin. Man wiederholt das Einfrieren und kann damit eine $2^1/_2$—3-fache Konzentration erzielen.

Im übrigen sind zur Konzentrierung von Antikörpern die im folgenden aufzuführenden, der Reindarstellung dienenden Methoden benutzt worden.

Gegenüber der Konzentrierung der Antikörper in vitro ist man darauf ausgegangen, die Wertigkeit der Seren durch rationelle Vorbehandlung geeigneter Tiere so zu erhöhen, daß eine weitere Einengüng nicht nötig erschien. Diese Konzentrierung der Antikörper in vivo hat aber ihre Grenze, so sind bei den Präzipitintieren die Bemühungen, nach erfolgter Blutentnahme und nach Erholung der Tiere durch erneute Antigenverabreichung womöglich eine Erhöhung des Antikörpergehaltes des Serums zu erreichen, meist erfolglos, die Tiere gehen zugrunde oder zeigen, falls sie am Leben bleiben, keine Konzentrierung des Präzipitins.

Für manche immunisatorisch und therapeutisch zu verwendende Antikörper wird sicherlich noch eine weitere Konzentrierung in vivo möglich sein, für die Gewinnung von Diphtherie- und Tetanusantitoxin scheint allerdings zurzeit die Grenze der Leistungsfähigkeit erreicht.

Bisher hat man sich dabei beruhigt, daß z. B. bei Diphtherie und Tetanus sehr hochwertige Seren zur Verfügung stehen, die die Versuche weiterer Konzentrierung in vitro überflüssig machen, es ist aber trotzdem nicht nur für diese, sondern noch viel mehr für die heute in geringerer Stärke gelieferten anderen in Frage kommenden Immun- und Heilseren durchaus erwünscht, daß auf dem kleinstmöglichen Raum die größte Antikörperdosis verdichtet zur Verfügung steht. Die Konzentrierung und Reindarstellung der Antikörper muß heute mit Hinblick auf die Gefahren der Serumkrankheit und Anaphylaxie doppelt erstrebenswert sein.

B. Versuche zur Reindarstellung von Antikörpern.

Vorbemerkungen über Serumeiweiß.

Der Eiweißgehalt des Serums von Säugetieren schwankt zwischen 7 und 9,7 Proz. Seit Heynsius unterscheidet man die Albumin- und die Globulinfraktion, in neuerer Zeit ist noch ein dritter Eiweißkörper im Serum gefunden worden, ein Nukleoproteid, das für uns hier nicht weiter in Frage kommt.

A. Die Globuline des Serums.

Eigenschaften: Meist unlöslich in Wasser; löslich in verdünnten Lösungen von Neutralsalzen (Chlornatrium, Chlorammonium, Magnesiumsulfat) und Alkalien; fällbar durch schwache, verdünnte Säuren, auch CO_2, löslich im Säureüberschuß; fällbar durch Verdünnen ihrer Lösung mit Wasser; die Globuline sind labil, verfallen leicht der Denaturierung und sind nur wieder löslich im frisch gefällten Zustande.

Gerinnungstemperatur bei einem Gehalte der Lösung an 5—10 Proz. NaCl = 69—76° (am häufigsten 75° C).

Darstellung. I. durch Säurefällung oder durch Verdünnen oder Dialyse; II. durch Neutralsalzfällung.

Eingehende Schilderung der Methoden bei Samuely in Abderhalden, Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden, Bd. 2, S. 360, **1910**; ferner Hoppe-Seylers Handbuch der phys. u. path.-chem. Analyse, 8. Aufl., S. 406, **1909**. Vgl. auch Hammarsten, Lehrbuch der physiol. Chemie, **1910**, 7. Aufl., sowie Morawitz in Oppenheimers Handbuch der Biochemie, Bd. 2, 2. Hälfte.

Darstellung:

I. Durch Ansäuern oder Verdünnen nach Hammarsten. Die Methode liefert nicht das gesamte Globulin. Das Globulin enthält noch das Fibrinogen und Fibrinoglobulin. Auch werden die durch Verdünnen einerseits und Essigsäure andererseits erhaltenen Globuline nicht für völlig identisch gehalten.

II. Aussalzen mit Neutralsalzen.

1. Fällung mit Ammonsulfat.

a) Nach HOFMEISTER, KAUDER, POHL (SAMUELY, S. 361) Halbsättigung. Man stellt sich eine kaltgesättigte Lösung von neutralem schwefelsauren Ammoniak her und trägt hiervon in die eiweißhaltige Flüssigkeit soviel ein, bis die Mischung 46 Proz. an gesättigter Ammonsulfatlösung enthält: Alles Globulin fällt aus, die Ausscheidung des Serumalbumins hebt an, wenn durch weitere Zugabe der Salzlösung ein Prozentgehalt von 64 resultiert. Der erhaltene Körper enthält noch das Fibrinogen und Fibrinoglobulin.

b) Nach REYE (SAMUELY, S. 362), 30-proz. Sättigung. Das erhaltene Serumglobulin ist fibrinogenfrei.

2. Fällung mit Kaliumacetat.

3. Fällung mit Magnesiumsulfat nach HAMMARSTEN (SAMUELY, S. 361) bei 30°, Zusatz bis zur Sättigung. Der Niederschlag enthält noch Fibrinogen und Fibrinoglobulin. Bei Dialyse bleibt ein Teil des Globulins gelöst.

4. Fällung mit Natriumsulfat (s. S. 221).

Zerlegung des Serumglobulins.

1. Trennung in wasserlösliches und wasserunlösliches Globulin durch Dialyse (MARCUS).

2. Fraktionierte Fällung mit Ammonsulfat in Euglobulin und Pseudoglobulin, s. auch unten S. 218 (FULD & SPIRO). ROSTOSKI konnte das Pseudoglobulin in drei weitere Fraktionen von bestimmten Ausfällungsgrenzen zerlegen.

Nach FREUND & JOACHIM sind die beiden durch fraktionierte Fällung mit Ammonsulfat zu erzielenden Globuline nicht identisch mit den beiden durch Dialyse erhaltenen Gruppen. Sowohl Euglobulin als Pseudoglobulin enthalten je einen in Wasser löslichen und unlöslichen Anteil (Para-Euglobulin und Para-Pseudoglobulin); über diese

3. Methode, die mit der Salzfällung die Dialyse kombiniert, siehe FREUND & JOACHIM.

PORGES & SPIRO konnten das Globulin in drei Fraktionen zerlegen, deren Fällungsgrenzen 28—36 (Euglobulin), 33—42 (Pseudoglobulin I), 40—46 (Pseudoglobulin II) sind. Konstant dabei ist nur die obere Grenze, die unteren schwanken und liegen um so tiefer, je höher die Konzentration der Globulinlösung ist.

Eine chemische Differenzierung dieser drei Eiweißkörper gelang nicht, sie unterscheiden sich durch ihre Fällungsgrenzen (Tabelle bei PORGES & SPIRO) und zum Teil durch ihre optische Wirksamkeit. Alle drei Körper koagulieren in 5-proz. Ammonsulfatlösung zwischen 70 und 75°.

Das Fibringlobulin befindet sich im Serum in sehr geringer Menge. Es gerinnt bei 64—66°, wird bei 28-proz. Sättigung mit $(NH_4)_2SO_4$-Lösung gefällt, ebenso durch NaCl. Die Kenntnisse über den Körper sind sehr unsicher. Das Fibrinogen ist ebenfalls ein Eiweißkörper von den Eigenschaften der Globuline.

Reindarstellung s. HAMMARSTENS Lehrbuch der physiol. Chemie, 7. Aufl. (1910), S. 242, ferner bei SAMUELY in ABDERHALDENS Handbuch der bioch. Arb., Bd. 2, S. 366 (Methode nach REYE).

Koagulationstemperatur liegt in 5—10-proz. NaCl-Lösung bei 50—52°, nach anderen Angaben 52—55° (in salzhaltiger Lösung), in schwach alkalischer oder fast neutraler, salzarmer Lösung bei 56°. Ganzsättigung mit NaCl fällt das Fibrinogen quantitativ. Ammonsulfat fällt das Fibrinogen schon bei geringeren Salzmengen als sie zur Fällung der Serumglobuline nötig sind.

B. Serumalbumin.

Eigenschaften: wasserlöslich; fällbar durch konzentrierte Säuren, der Niederschlag ist im Säureüberschuß wieder löslich. Durch verdünnte Mineralsäuren erfolgt keine Fällung. Die Albumine werden ferner nicht gefällt durch Halbsättigung ihrer Lösungen mit Ammonsulfat oder Sättigung mit Magnesiumsulfat oder mit Kochsalz bei neutraler Reaktion. Ist die Reaktion sauer, so bedingt Sättigen mit Kochsalz oder Magnesiumsulfat Fällung. Gerinnungstemperatur ist stark abhängig vom Salzgehalt, die salzhaltige Lösung gerinnt bei 70—85° C, die möglichst salzfreie Lösung gerinnt nicht beim Kochen. — Alkohol fällt die

salzfreie Lösung nicht, nach Zugabe von Salz (Kochsalz) tritt auch Alkoholfällung ein. —

Methoden der Darstellung: s. HAMMARSTENS Lehrbuch, 7. Aufl., S. 251 (Methode JOHANSSON, K. STARKE). Darstellung von kristallisiertem Serumalbumin nach GÜRBER, INAGAKI usf., siehe FR. N. SCHULZ in ABDERHALDENS Handb. d. bioch. Arbeitsmeth., Bd. 2, S. 337; ferner HOPPE-SEYLERS Handb., 8. Aufl., S. 395.

Methoden der Enteiweißung 1. durch Mastix, 2. durch Kaolin s. RONA & MICHAELIS (vgl. auch LANDSTEINER und UHLICZ).

Tabelle. Globuline des Blutserums. Grenzen der Fällung durch verschiedene Salze an den verdünnten Eiweißlösungen. (PORGES & SPIRO.)

Salzkonzentration in Prozent Sättigung	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Na Cl . . .										
K Cl . . .										
$NaNO_3$ . .										
Na-Acetat .										
K-Acetat . .										
$MgSO_4$ . .										
$(NH_4)_2SO_4$.										
Na_2SO_4 oberhalb 30°										

Die ausgezogenen Linien beziehen sich auf die Euglobulinfraktion, die strichpunktierten auf das erste Pseudoglobulin, die punktierten auf das zweite Pseudoglobulin.

I. Antitoxine.

Am häufigsten ist der Versuch unternommen worden, die Antitoxine zu konzentrieren oder rein darzustellen. Da es nicht angängig ist, die hierbei erhaltenen Resultate zu verallgemeinern und die in Betracht kommenden Methoden ohne weiteres für verwertbar auch bei der Darstellung anderer Antikörper zu halten, so muß bei der Unsicherheit auf dem ganzen Gebiete hier davon Abstand genommen werden, eine systematische Zusammenstellung der Methoden zu geben, vielmehr sollen die wichtigsten Versuche zur Darstellung der einzelnen Antikörper aufgeführt werden, wobei die Antitoxine eingehender zu berücksichtigen sind. Da die Antitoxindarstellung durch Forschungen über andere Antikörper zeitweilig gefördert und beeinflußt worden ist, so sollen dabei auch diese letzteren Ergebnisse zum Teil schon bei diesem Kapitel kurz skizziert werden.

a) Darstellung aus Blut oder Serum.

Die ersten Versuche, Antitoxin aus Immunserum zu gewinnen, gehen auf Tizzoni & Cattani zurück: sie fanden, daß das Tetanusantitoxin des Hunde- und Kaninchenimmunserums nicht dialysiert, daß es sich in dem Ammonsulfat- und Alkoholniederschlag findet, aus dem es mit Wasser oder Glyzerin ausgezogen werden kann.

Bei ihren weiteren Versuchen, die Globuline des Immunserums (Hund) von den Albuminen zu trennen, fanden sie die Methode der Fällung durch Kohlensäure aus dem durch Wasser verdünnten Serum nicht brauchbar, ebenso wenig die Neutralisation des Blutes mit Essigsäure und darauffolgende Verdünnung mit Wasser. Brauchbar hingegen fanden Tizzoni & Cattani die Methode von Hammarsten: Fällung der Globuline durch Magnesiumsulfat.

1 ccm Hundeimmunserum wurde mit Kristallen von Magnesiumsulfat versetzt, bis ein Teil von ihnen bei 30° C ungelöst blieb. Nach Bildung des Niederschlags Filtration bei 30°, Auswaschen mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung. Dialysieren des Filtrats sowie des in wenig destilliertem Wasser suspendierten Niederschlags bei 35°; Lösung der im Niederschlag enthaltenen Globuline durch Zugabe von kohlensaurem Natron.

Das Filtrat erwies sich frei von Antitoxinen, hingegen stellten T. & C. fest, daß die Träger der Schutz- und Heilwirkung sich wie ein Globulin verhielten.

Die Methode des Einleitens von Kohlensäure in Serum ist dann von Emmerich & Tsuboi zur Darstellung der im Rotlaufimmunserum des Kaninchens vorhandenen Antikörper (Heilstoffe) benutzt worden, sie fanden das Serumglobulin unwirksam, schrieben die Wirkung den Albuminen zu und fanden den Globulingehalt des Immunserums gegenüber dem normalen Tiere vermindert oder sogar fehlend.

Bei allen vorgenannten Versuchen ist das Quantitative (Wirkungswert des Ausgangsmaterials und der erhaltenen Produkte) nicht berücksichtigt.

Die ersten systematischen zahlenmäßigen Versuche zur Konzentrierung der Antikörper brachten Arbeiten von Brieger & Ehrlich sowie von Aronson.

Brieger & Ehrlich hatten gefunden, daß das Antitoxin der Milch tetanusimmunisierter Ziegen nach Abscheidung des Kaseins in der Molke sich findet und zur Konzentrierung Fällungsmittel wie Essigsäure, Tannin, Oxalsäure, Weinsäure, Essigsäure und Chlornatrium, Essigsäure und Ferrocyankalium, Alkohol, Metallsalze, Chlornatrium, phosphorsauren Kalk, Magnesiumhydroxyd, Aluminiumhydroxyd usw. versucht. Im Gegensatz zu Tizzoni erhielten sie mit Alkohol unbefriedigende Resultate, sie fanden schließlich Ammoniumsulfat und Magnesiumsulfat als die geeignetsten Mittel und brachten dabei das Prinzip der fraktionierten Fällung zur Anwendung (Methodik s. S. 225). Brieger & Ehrlich suchten mit der gleichen Methode auch aus Blutserum die wirksamen Stoffe auszufällen, erhielten aber nicht so starke Konzentrierung wie bei der Milch. Auch Aronson konnte auf diesem Wege das Diphtherieantitoxin aus Serum in fester Form darstellen, deren Lösung aber nicht wirksamer war als das Ausgangsserum. Durch Aronsons Versuche wurde erwiesen, daß die von Emmerich & Tsuboi bei Rotlaufserum ermittelte Unwirksamkeit des Globulins für das Diphtherieserum nicht gilt: das nach Hammarstens Angabe mit Magnesiumsulfat gefällte, gewaschene und

durch Dialyse gereinigte Globulin wirkte stark immunisierend, nach Aronson war aber auch der Serumrest noch wirksam.

Aronson beobachtete weiterhin, daß das Antitoxin des Serums bei Filtration durch Aluminiumhydroxyd zum größten Teile in der Tonerde zurückgehalten wird, er verfuhr zur Konzentrierung von Diphtherieantitoxin in folgender Weise:

100 ccm Blutserum werden mit 100 ccm Wasser verdünnt und mit 70 ccm 10-proz. Aluminiumsulfatlösung versetzt. Zu der Mischung gibt man langsam soviel 5-proz. Ammoniaklösung hinzu, daß das Aluminiumsulfat zum größten Teil zersetzt wird, die Reaktion jedoch schwach sauer bleibt. Der Niederschlag wird durch Filtration getrennt und durch Aufgießen von 150—200 ccm Wasser gewaschen. Der im Filter befindliche anorganische Niederschlag enthält 95 Proz. der wirksamen Substanz. In ähnlicher Weise wie die Tonerde kann das aus Ferrocyankalium und Zincum sulfuricum entstehende Ferrocyanzink, ferner das durch Fällung von Eisensalzen mittels Alkali sich bildende Eisenhydroxyd verwendet werden. Die Trennung der wirksamen Substanz von dem anorganischen Niederschlag gelingt durch mehrfaches Schütteln (im Schüttelapparat) mit schwach alkalischen Lösungen (Soda, Ammoniak) und Filtration. Aus dem eiweißhaltigen Filtrat kann das Antitoxin in fester Form durch Fällung mittelst Alkohol oder Ammoniumsulfat oder durch Eindampfen der Lösung im Vakuum bei 45° gewonnen werden.

Aronson erreichte mit dieser Methode eine 30—100-fache Konzentration.

Die Befunde von Emmerich & Tsuboi erhielten scheinbar eine Stütze, als Smirnow (1895) in dem aus Pferdenormalserum ausgefällten Globulin bei Vermischung mit Diphtheriegift eine neutralisierende, aber im Tierversuch keine therapeutische Wirkung fand und die Albumine des Serums als Träger der immunisierenden und therapeutischen Eigenschaften erklärte.

Durch die Versuche von R. Pfeiffer & Proskauer über die Darstellung der bakteriolytischen Choleraimmunkörper (s. S. 227) mußte aber die Anschauung, daß die Antikörper sich wie die Serumalbumine verhalten, erschüttert werden. Einen sehr wertvollen Beitrag zur Darstellung von Antitoxinen lieferten dann Brieger & Boer, die zunächst auch das Prinzip der mechanischen Ausfällung anwandten und erweiterten, sodann aber den Darstellungsmodus der Ueberführung in unlösliche Doppelverbindungen mit nachfolgender Zerlegung in die Komponenten wählten.

Brieger & Boer erhielten durch die Fällung mit Magnesiumsulfat oder Kochsalz bei 30—37°, selbst wenn sie 24 Stunden lang die Wärme einwirken ließen, bei antitoxinhaltigem Serum höchstens 50 Proz. Ausbeute. Auch zur Konzentrierung erwiesen sich diese Methoden wenig geeignet, da große Mengen unwirksamer Blutalbuminate mit ausfielen.

Eine vollständige Aussalzung des gesamten Antitoxins erreichten Brieger & Boer durch die Kombination von Kochsalz und Chlorkalium:

10 ccm Blutserum wurden mit 10 ccm Aq. dest. verdünnt und mit 4 g Chlorkalium versetzt. Nach der Lösung schüttelten sie die Flüssigkeit mit 4—5 g fein zerriebenen Kochsalzes kräftig. Das Gemisch wurde 18—20 Stunden bei 30—37° gehalten. Der Niederschlag enthielt die Antitoxine quantitativ. 10 ccm lieferten 0,4 g im Exsikkator getrockneten Niederschlages, der in gleichen Teilen Wasser löslich war.

Unter Verwendung von Jodkalium an Stelle des Chlorkaliums bildeten sich bei Brutschrankwärme unlösliche Niederschläge, die ebenfalls die Antitoxine und einen Teil der Albumine enthielten. Die Niederschläge konnten mit Wasser ohne

Verlust an wirksamen Bestandteilen ausgewaschen werden, an schwach alkalisches Wasser wurden sie quantitativ abgegeben.

Es gelang BRIEGER & BOER ferner, einen Teil der in dem Chlorkalium-Chlornatrium-Niederschlag befindlichen, dem Antitoxin anhaftenden Eiweißsubstanzen dadurch zu beseitigen, daß sie ihn mit dem gleichen Volumen feingepulverten Magnesiumsulfates versetzten, das Ganze 2—3 Stunden lang im Brutschrank hielten, ebendarin den entstehenden Niederschlag rasch abfiltrierten und durch gesättigte Magnesiumsulfatlösung auswuschen. Nach Dialysieren des Niederschlags erhielten sie 0,2 g trockenen Rückstand, der in gleichen Teilen Wasser löslich war und die Antitoxine quantitativ enthielt.

Das Verfahren benutzten BRIEGER & BOER zur Konzentrierung der Antitoxine bei Diphtherie-, Tetanusserum und Tetanus-Ziegenmilch.

Das gleiche Prinzip wandten ASTROS & RIETSCH an: dem 5-fach verdünnten Diphtherieheilserum setzten sie Chlornatrium und Chlorkalium zu, bis die Lösung 20-proz. wurde und hielten sie bei 33° 1 Tag lang.

In dem Bestreben, die Antitoxine von den anhaftenden unwirksamen Albuminaten zu befreien, haben sich BRIEGER & BOER solchen Methoden zugewandt, die eine Paarung der Antitoxine mit chemischen Stoffen zu einer Doppelverbindung erstrebten, um aus ihr die anhaftenden Eiweißkörper und den Paarling zu entfernen.

Erfolglos blieben die Versuche mit stickstoffhaltigen Substanzen aus der organischen Reihe, wie Pyridinderivaten, (Pyridin, Chinolin, Acridin) oder Alkaloiden (Strychnin, Brucin, Morphin), hingegen gelang die

Konzentrierung des Antitoxins durch Fällungen mit Schwermetallsalzen.

1. Von Plumbaten eignet sich nach BRIEGER & BOER das neutrale Bleiacetat in verdünnter, mit einer Spur Ammoniak versetzter Lösung; der (im Diphtherieserum) erzeugte Niederschlag enthält die große Masse der überschüssigen Eiweißsubstanzen, das Filtrat enthält alles Antitoxin. Nach Schütteln des Filtrates mit Ammoniumsulfat, Dialysieren und Trocknen erhält man ein leicht lösliches Pulver (10 ccm Heilserum lieferten im besten Falle 0,06 g Pulver). Die Methode liefert wegen der leichten Löslichkeit der Bleiverbindungen sehr schwankende Ergebnisse.

2. Cadmiumsulfat liefert höchstens 50 Proz., Kupfersulfat etwas mehr Antitoxin.

3. Quecksilberbichlorid ist brauchbar, wenn man das Serum vorher mit sehr geringen Mengen Chlornatrium versetzt. Methode s. BRIEGER & BOER.

4. Als besonders geeignet haben sich Zinksalze erwiesen.

10 ccm Heilserum werden mit dem 5-fachen Volumen Wasser verdünnt und mit 20 ccm einer 1-proz. Zinksulfat- oder Zinkchloridlösung versetzt. Der Niederschlag, der alles Antitoxin enthält, wird abfiltriert, mit Wasser vorsichtig ausgewaschen und in schwach alkalischem Wasser (1 Tropfen n-NaOH : 20 ccm Wasser) gelöst. In die Lösung wird Kohlensäure eingeleitet; waren die Antitoxine mit Zinksulfat behandelt, so werden sie jetzt in den entstehenden Niederschlag eingeschlossen; hatte man Zinkchlorid verwendet, so finden sie sich im Filtrat. Dieses oder der eben erwähnte Zinksulfat-Niederschlag werden im Exsikkator getrocknet und mit Wasser gelöst, dabei werden die „Zinkalbuminate“ zum größten Teil vom Wasser aufgenommen, die „Zinkantitoxine“ bleiben ungelöst. Sie sind aber durch Kochsalz oder schwache Alkalien leicht zu lösen. Durch erneute Kohlensäurebehandlung kann der größte Teil, aber nicht alles Zink abgetrennt werden. 10 ccm Diphtherie- oder Tetanusheilserum ergaben nach dieser Methode ca. 0,1 g Pulver, das leicht in Wasser sich löste und sämtliches Antitoxin der Ausgangsflüssigkeit enthielt.

Die Versuche von BRIEGER & BOER zur Darstellung des Diphtherieantitoxins sind von FREUND & STERNBERG fortgesetzt worden:

Strontium- und Kobaltsalze ergaben negative Resultate; Aluminiumsulfat und Kalialaun fällten das Antitoxin nicht, vielmehr ging es in das Filtrat über, aus dem es durch Chlorzink nicht gefällt wurde. In dem nach Anwendung

von Kalialaun erhaltenen Filtrate erzeugte Lauge einen den Heilkörper enthaltenden Niederschlag, der sich in überschüssiger Lauge löste. Eisenchlorid in bestimmten größeren Mengen schloß den Heilkörper in den Filterrückstand ein, aus dem er aber nur durch eine 20-proz. Lösung von kohlensaurem Natron wieder freigemacht werden konnte, freilich ging dadurch auch ein beträchtlicher Teil des gefällten Eiweißes in Lösung. Wird Eisenchlorid in kleineren Mengen oder in Kombination mit essigsaurem Natron zu dem Serum hinzugefügt, so bekommt man den Heilkörper in das Filtrat, das aber auch reichlich Eiweißkörper enthält.

Die günstigsten Resultate zur Darstellung des Heilkörpers aus dem Diphtherieheilserum hatten Freund & Sternberg mit einer kombinierten Fällungs- und Aussalzungsmethode.

F. und S. versetzen das Serum zu einem Dritteile seines Volumens mit 5-proz. Kaliumalaunlösung (Ausfällung der Albumine), das Filtrat, das die Antitoxine enthält, wird dialysiert. Das Dialysat wird zur Hälfte mit schwefelsaurem Ammon gesättigt, der so gewonnene Niederschlag wird nach Lösung und Dialyse im Vakuum eingeengt. 1 Liter Serum ergibt hierbei etwa 18 g Trockensubstanz, die braunrote, leimähnliche Masse ist in Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung löslich (ca. 3 g Substanz auf 10 ccm Wasser), die Lösung hat denselben Heilwert wie das nicht filtrierte Präparat, sie verträgt auch den Zusatz von Karbolsäure (0,5 Proz.). Zur Lösung kann man auch mehr Flüssigkeit benutzen. Wurde die Flüssigkeit im Vakuum bis zur Trockne eingedampft, so stellt sich bei der Lösung eine durch Filtrieren zu beseitigende Trübung ein, sie ist zu vermeiden, wenn die Einengung nur bis zu einer gewissen Konsistenz erfolgt.

Eine Klärung der oben angeführten widersprechenden Beobachtungen über die Wirksamkeit des Immunserumglobulins und Albumins wurde angebahnt, als Dieudonné, ferner Belfanti & Carbone zeigten, daß je nach der Darstellungsmethode der Globuline der Antitoxinbefund ein verschiedener ist.

Wenn Dieudonné zur Gewinnung der Globuline in das 10-fach mit Wasser verdünnte Diphtherieheilserum (100-fach) Kohlensäure einleitete, den Niederschlag in 2-proz. Kochsalzlösung löste und diese Lösung im strömenden Wasser dialysierte, so war die giftneutralisierende Komponente des Serums sowohl in dem Globulinniederschlag des Dialysators als auch in der globulinfreien Flüssigkeit, und zwar in letzterer in der überwiegenden Menge vorhanden. Bei Ausfällung eines gleichwertigen Heilserums mit Magnesiumsulfat fand sich umgekehrt die größere Menge der wirksamen Stoffe im Niederschlag, die geringere in der globulinfreien Flüssigkeit. Es entsprachen diese Befunde auch den Ergebnissen, die Dieudonné bei der Abscheidung der im Normalserum vorhandenen Antikörper erhalten hatte. Eine Verminderung des Globulins im Immunserum konnte Dieudonné nicht konstatieren.

Auch Belfanti & Carbone wurden schon darauf aufmerksam, daß bei der Globulindarstellung mit Magnesiumsulfat, Ammoniumsulfat einerseits und Kohlensäure, Essigsäure andererseits das Antitoxin sich verschieden verhielt: im letzteren Falle war die obenstehende Flüssigkeit noch antitoxisch. Sie fanden im Normal- und Immunserum die gleiche Menge Globulin.

Als dann E. Marcus eine schon 1883 von A. E. Burkhardt mitgeteilte Beobachtung, daß im normalen Serum die Globuline aus einem wasserunlöslichen und wasserlöslichen Teile bestehen, bestätigte, zeigte Seng, daß auch beim Dialysieren des Diphtherieantitoxins (gegen fließendes Wasser bis zur Salzfreiheit) nur ein kleiner Teil ($^1/_{23}$ bis $^1/_{11}$) aller Globuline unlöslich wurden, — diese aber

antitoxinfrei waren — (später bestätigt von Brieger & Krause), daß die Hauptmenge aber und mit ihr die sämtlichen Antitoxine in Lösung blieben.

Methode Sengs.

Seng fällte zunächst aus dem Diphtherieserum (bei der natürlichen Alkaleszenz) durch Zusatz von $^1/_3$ Volumen einer 5-proz. Lösung von Kalialaun die Albumine aus, die Antitoxine bleiben dabei in Lösung. Filtration durch angefeuchtete Faltenfilter, Auswaschen des Niederschlags mit Wasser (nicht mit Kalialaunlösung, da sich hierin ein Teil des Niederschlags löst). Entsalzen des Filtrats durch Dialyse bis zur Salzfreiheit. Abfiltrieren des Niederschlags durch feuchte Filter (unlösliche Globuline), Auswaschen mit Wasser, bis bei Ueberschuß von destilliertem Wasser keine Trübung entsteht. Ausfällung des Globulins durch Magnesiumsulfat oder Ammonsulfat, Lösung des Globulinniederschlags durch wenig Wasser.

Durch die Feststellungen Sengs fanden die oben erwähnten Widersprüche ihre Erklärung: Durch Einleiten von Kohlensäure, eine Methode, die noch dazu sehr ungleichmäßige Resultate gibt, fällt nur der kleinste Teil des Globulins aus (der in Lösung gebliebene Teil des Globulins addiert sich bei Bestimmung des Serumalbumins durch Alkoholfällung zu diesem, daraus erklären sich die abweichenden Resultate von Emmerich & Tsuboi); es ist ferner der durch Essigsäure entstehende Niederschlag zum größten Teil identisch mit dem bei der Dialyse ausfallenden Teil des Globulins.

Die Reinigung und Konzentrierung durch Dialysieren muß schon deshalb sehr ungleichmäßige Resultate ergeben, weil die verschiedenen Dialysierpapiere ungleich dicht sind, vielleicht auch Poren führen, die Antikörper durchlassen.

Die Globuline stellen also nichts Einheitliches dar, je nach der Darstellungsweise sind sie ungleichartig. Die Antitoxine verbleiben nach Seng bei den löslichen Globulinen. Die Albumine und unlöslichen Globuline sind als Träger der aktiven Substanz auszuschließen.

Auch weiterhin gab die Suche nach Antikörpern der Blutchemie, speziell der Globulinforschung, einen kräftigen Impuls: so regten die Beobachtungen über Antilab Fuld & Spiro zu genaueren Versuchen über die Salzfraktionierung an. Nachdem Reye das Fibrinoglobulin Hammarstens durch 21,5-proz. Sättigung mit Ammonsulfat von den anderen Globulinen getrennt hatte und Spiro & Haake das durch Dialyse leicht fällbare Globulin bei Halbsättigung mit Kaliumacetat ausgefällt erhielten, konnten Fuld & Spiro diesen Körper durch Sättigung bei 28—33 Proz. Ammonsulfat, den durch Dialyse und Halbsättigung mit Kaliumacetat nicht fällbaren Stoff bei 34- bis 46-proz. Sättigung gewinnen. Diesen albuminähnlichen Körper bezeichnen sie auf Vorschlag von Hofmeister als Pseudoglobulin, den ersteren, durch Halbsättigung mit Kaliumacetat, Essigsäure und Dialyse fällbaren Eiweißkörper als Euglobulin. Diese die Globuline differenzierenden Methoden wandte für antikörperhaltige Seren besonders Pick an, er stellte fest, daß das von Reye bei 21,5Proz. Ammonsulfat abgeschiedene Fibrinoglobulin Diphtherieantitoxin nicht enthält. Auch die Globuline, die sich bei einem Gehalt von 25,6 Proz. an Ammonsulfat dann noch aus dem Serum abscheiden lassen (Fraktion II) waren antikörperfrei. Es verbleibt ein Eiweißkörper in Lösung (Fraktion III), der durch weiteres Eintragen der gesättigten Ammonsulfatlösung bis zu einem Gehalte von 38 Proz. von dem

Serumalbumin (Fraktion IV) gut zu trennen ist und den Heilkörper quantitativ enthält. Hiermit stimmen die Ergebnisse von IDE & LEMAIRE überein. PICK vermochte mit diesem Verfahren den Heilkörper des Serums um das 10—15-fache zu konzentrieren. Auch beim Tetanuspferdeimmunserum fand PICK das Euglobulin frei von Heilwirkung, das gesamte Antitoxin ließ sich mit dem Pseudoglobulin ausfällen.

Merkwürdigerweise verhält sich das Antitoxin im Serum diphtherieimmunisierter Ziegen anders: PICK fand nach derselben Methode das Pseudoglobulin völlig unwirksam, hier fiel das Antitoxin mit dem Euglobulin aus, obwohl, wie der Vorversuch an normalem Ziegenserum ergab, die Ziegenglobuline die gleichen Fällungsgrenzen wie die Pferdeglobuline aufweisen.

Verteilung verschiedener Immunkörper im Blute differenter Tiergattungen (E. P. PICK).

Immunkörper	Fibrinoglobulin	Euglobulin	Pseudoglobulin	Albumin
Diphtherieantitoxin	0	Ziege	Pferd	0
Tetanusantitoxin	0	(Ziegenmilch?) (EHRLICH & BRIEGER)	Pferd	0
Choleralysine PFEIFFER	0	Ziege	0	0

Wie die Tabelle sagt, sind in den angeführten Versuchen Beziehungen zwischen den Immunkörpern des Serums weder zu den Albuminen noch zu dem Fibrinoglobulin nachweisbar gewesen, hingegen finden sich die aktiven Körper, wie erwähnt, in den Fraktionen eines der beiden anderen Globuline, des Euglobulins oder des Pseudoglobulins.

Die auffallende Verschiedenheit des Verhaltens der Antikörper im Ziegen- und Pferdeserum mußte zu weiteren Untersuchungen auffordern.

O. PORGES & E. PRIBRAM (zitiert bei PRIBRAM) fanden, daß diese Befunde PICKS sich nicht als konstant erweisen, sondern daß sich auch bei derselben Tierart, sogar bei ein und demselben Serum je nach der Länge der Aufbewahrung Verschiedenheiten zeigen. Sie bringen das in Beziehung zu den Befunden von VAN DE VELDE, der in der Tat die Eiweißfraktionen des Serums verschieden verteilt fand, je nachdem es sich um frisches oder längere Zeit aufbewahrtes Serum handelte.

Mit der HOFMEISTERschen Methode schied RODHAIN die verschiedenen Eiweißgruppen aus einem Antistreptokokkenserum aus. Resultat: Die Albumin- und Pseudoglobulinfraktion erwies sich bei Schutzversuchen (Kaninchen) unwirksam, allein der Euglobulinfraktion kam Schutzwirkung zu.

Da nach Versuchen in vitro, die RODHAIN anschloß, die Pseudoglobulin- und Albuminfraktion des Streptokokkenserums auf die Phagocytose der Streptokokken keinen Einfluß hatte, hingegen in den mit dem Euglobulin beschickten Röhrchen energische Phagocytose erfolgt war, so wird man auch die Tropine in dieser Fraktion vermuten dürfen.

Nach v. SZONTAGH & WELLMANN nehmen im Diphtherieheilserum mit steigendem Antitoxingehalt die Gefrierpunktserniedrigung und die elektrische Leitfähigkeit ab. Ein Zusammenhang zwischen Eiweißgehalt und Antitoxingehalt der Sera war nicht nachzuweisen, wohl aber scheint der Gesamt-

eiweißgehalt der Immunsera (12 Analysen Heilserum, Durchschnittswert = 7,820 g) etwas höher zu sein als der von Normalpferdeserum (12 Analysen = 7,567 g), wofür auch Sengs Analysen sprechen, der 8,26 Proz. Gesamteiweißgehalt im Heilserum fand. Seng fand als Unterschied zwischen dem löslichen Globulin aus normalem Serum und dem aus Heilserum die Verschiedenheit der Fällungspunkte: beim normalen Serum betrugen sie 65, 68, 71°, bei Heilserum traten die ersten Flocken bei 71° auf, die Hauptmenge koagulierte bei 75°.

Erhöhung des Gesamteiweißgehaltes im Diphtherieimmunserum (Pferd, Methode Kjeldahl), ferner Abnahme des elektr. Leitungsvermögens konstatierte Butjagin, hingegen fand Beljaeff sowohl im Diphtherieheilserum (vom Pferd) als auch im Immunserum von Kaninchen, die mit verschiedenen Antigenen vorbehandelt waren und Agglutinine, Präzipitine, Bakteriolysine lieferten, keine Veränderung der physikalischen Konstanten (Depression, spez. Gewicht, Refraktion) gegenüber den im Normalserum zu findenden Werten, die abweichenden Resultate anderer Autoren finden möglicherweise ihre Erklärung in den durch den verschiedenen Ernährungszustand der Tiere bedingten Veränderungen dieser Zahlen (Strubel & Ussow).

Nachdem auch von Atkinson der Antitoxin- und Globulingehalt in Beziehung gebracht worden sind, konnte Joachim bei der Analyse des Serums eines Pferdes vor und nach der Immunisierung mit Diphtherietoxin nur eine unwesentliche Erhöhung des Gesamteiweißgehaltes konstatieren; es trat aber eine starke Zunahme des Gesamtglobulins auf Kosten des Albumins auf, und zwar des Euglobulins, das aber ja gerade den aktiven Heilkörper nicht enthält. Die Joachimsche Methodik gab gut übereinstimmende Resultate, er fällte und bestimmte Euglobulin, Pseudoglobulin und Albumin nacheinander aus ein und derselben Serumportion, die Ergebnisse sind aber insofern nicht mit anderen vergleichbar, als er die Seren nicht verdünnte.

In den Organen war eine homologe Zunahme der Globulinwerte nicht nachzuweisen (F. Pick, zitiert bei J. Pohl).

L. Langstein und M. Mayer fanden bei Tieren, die gegen Schweinerotlauf und Typhus immunisiert waren (ebenso wie bei mit Pneumo- oder Streptokokken immunisierten Tieren) Zunahme des Globulins (mitunter auf das Doppelte) und Abnahme des Albumins im Plasma, so daß der Eiweißquotient bis 1:2 ja sogar 1:1 herabgehen kann; normalerweise schwankt bei Kaninchen das Verhältnis von Serumglobulin zu Albumin zwischen 1:2 und 1:3 und soll nach L. und M. nicht unter 1:2 sinken; in fast allen Fällen zeigte der Gesamteiweißgehalt des Blutes eine Steigerung.

Nach den Untersuchungen Molls kann aber auch bei normalen Kaninchen der Eiweißquotient unter 1:1 sinken. Vgl. auch P. Th. Müller, der die Mollschen Schwankungen bestätigte. Auch Müller fand nach Injektion verschiedenartiger Bakterien (abgetötete, avirulente Staphylo- und Streptokokken, Typhusbacillen) eine Vermehrung des Fibrinogen- und des Gesamteiweißgehaltes im Blutplasma, hingegen keine wesentliche Vermehrung der Globulinfraktion. Auch im Knochenmarkextrakt der vorbehandelten Tiere wurde eine beträchtliche Steigerung des Gesamteiweiß- und des Fibrinogengehaltes von Müller beobachtet, die Fibrinogenvermehrung war besonders auffallend bei den mit Staphylokokken immunisierten Tieren.

Die Methode der Globulinbestimmung mittels Aussalzens durch Ammonsulfat wandte auch Glaessner für das Blutplasma und Serum von Kaninchen und Pferden vor und nach der Immunisierung (mit Typhus und Coli, Serum vom Rind und Pferd) an und konstatierte, daß eine Globulinvermehrung im Blute vorkommen kann, wenn die Tiere schwere Stoffwechselstörungen (Abmagerung) zeigen, daß sie aber bei vorsichtiger Handhabung der Immunisierung nicht aufzutreten braucht. Den Globulingehalt im Plasma und im Serum der immunisierten Tiere fand er nicht wesentlich voneinander verschieden.

Die Frage ist dann weiter systematisch von L. Moll bearbeitet worden, und zwar untersuchte er das Serum von Kaninchen und Hunden vor und nach der subkutanen Behandlung mit Präzipitinogen (Pferdeserum, Globulin etc.). Er fand bei gleichbleibendem Eiweißgehalt des Serums Globulinvermehrung (von Interesse ist, daß bei dem einzigen Tier, das nach der Behandlung keinen Globulinzuwachs aufwies, der Globulingehalt des Serums von vornherein ein sehr hoher war, fast 50 Proz. des Gesamteiweißes), ein Zusammenhang dieser Globulinvermehrung mit der Abmagerung besteht nicht.

Die Versuche, Beziehungen zwischen dem Antitoxin- und Globulingehalt des Serums während der Diphtherieimmunisierung aufzu-

finden, sind von LEDINGHAM neuerdings wieder aufgenommen worden, die Resultate sind auffallend, aber nicht beweisend.

In dem einen Falle trat bei der Immunisierung eines Pferdes, die einen sehr hohen Grad erreichte, eine starke Zunahme des Globulins im Verhältnis zum Gesamteiweiß ein, die Zunahme betraf in erster Linie die Euglobuline, in geringerem Maße die Pseudoglobulinfraktion. So lange der Antitoxingehalt des Serums während der Immunisierung gleichmäßig in die Höhe ging, enthielt die Pseudoglobulinfraktion die Hauptmenge, wenn nicht die Gesamtheit des Antitoxins. — Bei der Immunisierung einer Ziege trat umgekehrt eine Zunahme der Albuminfraktion in den Vordergrund, die Vermehrung der Globulinfraktion war gering. Auch insofern lagen die Verhältnisse bei der Ziege anders, als hier während des Immunisierungsprozesses der Gehalt der Euglobulin- und Pseudoglobulinfraktion sich schwankend erwies. Von besonderem Interesse sind die Befunde bei der Immunisierung eines weiteren Pferdes, dessen Globulingehalt von vornherein relativ hoch war: bei diesem Tier war ein hoher Antitoxingehalt nicht zu erzielen. Während der Immunisierung stieg der Globulingehalt des Serums nicht, eine geringe Vermehrung des Gesamteiweißes war auf Rechnung der Albuminfraktion zu setzen. LEDINGHAM ist geneigt, die Unmöglichkeit, bei diesem Tier stärkere Antitoxinbildung zu erreichen, mit dem beträchtlichen Gehalt des Serums an Globulin in Beziehung zu bringen.

Die von PICK gefundenen Fällungsgrenzen sind keine absoluten. Nachdem W. POPPLEWELL-BLOXHAM in sehr verdünnten Eiweißlösungen Abweichungen insofern gefunden hatte, als hier zur kompletten Eiweißfällung weit mehr Ammonsulfat als die zur Absättigung des Wassers nötige Menge erforderlich war, konstatierten BRUNNER & PINKUS das gleiche bei verdünnten Antitoxinlösungen. Da außerdem bei Verwendung von Ammoniumsulfat aus nativem Eiweiß Ammoniak frei wird, so wandten sie sich dem Natriumsulfat zu, dessen wasserfreies Salz bei 30—32° bei gleichen Eiweißkonzentrationen im molekulären Verhältnis annähernd die gleiche Fällungskraft, deren Kurve gleichmäßiger verläuft, aufweist und auch noch eine Reihe weiterer Vorzüge vor dem Ammoniumsulfat besitzt (es verändert auch empfindliche Fermente und Toxine nicht).

Grenzzahlen für die Fällung von Globulinen resp. Albuminen aus Blut resp. Serum mittels Natriumsulfat.

Blut bzw. Serumart	Verdünnungsgrad	Menge von wasserfreiem Natriumsulfat in Proz.	Es erfolgt
1. Ochsenblut	1:4	20,0	Vollkommene Fällung der Globuline
	1:4	28,8	„ „ des Hämoglobins
	1:4	35,0	„ „ d. gesamt. Proteine
2. Pferdeserum	1:5	8,8	Erste Trübung
	1:5	14,0	Vollkommene Fällung des Fibrinogens
	1:5	18,8	„ „ „ Globulins
	1:5	37.5	„ „ der Albumine
3. Pferdeserum	1:10	20,0	Fällung der Globuline
	1:10	39,0	„ „ Albumine

Wie bei der Fällung mit Ammoniumsulfat, so liegt auch hier zwischen den einzelnen Proteinen eine Zone, innerhalb deren eine weitere Ausfällung nicht erfolgt (hat man Globulin mit 20 Proz. wasserfreien Natriumsulfats ausgefällt, so beginnt die Fällung der Albumine erst gegen 27,5 Proz. und ist erst nach Zusatz von 39 Proz. des Salzes vollendet).

Die Trennbarkeit der Euglobuline und Pseudoglobuline wird bei Verwendung von Natriumsulfat in der gleichen Weise wie bei Ammoniumsulfat durchgeführt. Da in Zukunft das Natriumsulfat für Fällungsversuche öfter benutzt werden dürfte, sei hier eine Uebersicht über die Löslichkeit gegeben.

Wasserlöslichkeit von Na_2SO_4.

Temperatur	Löslichkeit von Proz.
34° C	55,0 (Maximum)
18	16,8
6	7,0
0	5,0

Wegen dieser Eigenschaft des Natriumsulfats, bei Erniedrigung der Temperatur sich auszuscheiden, so daß die Fällungen in dem salzärmeren Medium sich zum Teil wieder lösen, sind alle Gefäße während des Versuchs auf gleichmäßiger Temperatur zu halten.

Fraktionierte Fällung des Blutserums oder des Plasmas (verdünnt mit 1—2 Teilen physiologischer Salzlösung) mit steigenden Mengen Natriumsulfat.

Quantität Natriumsulfat in Proz.	Antitoxin im Niederschlag	Antitoxin im Filtrat
5,0	0	alles
7,5—9	0 oder ganz geringe Menge	alles oder fast alles
9 —12	50 Proz.	50 Proz.
15,0	70 „	30 „
18,0	mehr als 80 Proz.	weniger als 20 Proz.
20—22	98—100 Proz.	1—2 Proz. oder 0

Methode von BUCHNER & PINKUS zur Konzentrierung von Diphtherieheilserum.

125 ccm Diphtherieheilserum werden, āā mit Wasser verdünnt, auf 32° erwärmt und mit 50 g wasserfreien Natriumsulfates vermischt. (Das Salz löst sich schlecht, wenn es vor dem Erwärmen eingebracht wird.) Die Lösung bleibt über Nacht im Brutschrank bei 32°, danach Filtration im Brutschrank. Der Niederschlag wird mit kleinen Portionen einer 20-proz., auf 32° erwärmten Lösung von Natriumsulfat gewaschen. Man paßt sorgfältig den Augenblick ab, in welchem der Niederschlag noch feucht ist, aber nichts mehr abtropft (eingetrockneter Niederschlag löst sich schwer!). In den Niederschlag, der nun bei Eisschranktemperatur (6° C) zu halten ist, werden zur Anregung der Kristallbildung einige Kristalle Glaubersalz eingesteckt, damit tritt Lösung von Eiweiß ein, das in dicken Tropfen abfließt. Der Filterrückstand wird, ebenfalls im Eisschrank, mit 60 ccm kalten Wassers gewaschen. Das konzentrierte Antitoxin ist farblos, klar, leicht opaleszierend. Nach 4 Monaten war Schwächung nicht zu konstatieren. Der Natriumsulfatgehalt beträgt 6 Proz. (läßt sich durch Dialyse entfernen).

Nach dieser Methode von BRUNNER & PINKUS beträgt der absolute Verlust an Antitoxin 7—8 Proz., dafür enthält die Volumeneinheit schließlich ein stärkeres Antitoxin (ca. 4-fach) und geringeren Eiweißgehalt. Waren vor der Einengung 1000 IE. in 0,39824 g Protein enthalten, so reduzierte sich diese Eiweißmenge bei gleichem Antitoxingehalt auf 0,1904—0,2187 Eiweiß. Beispiel: Diphtherieserum, 250 IE., 50 ccm ergaben 17 ccm von 650 IE., in einem anderen Falle ergaben 125 ccm eines gleichen Ausgangs-Antitoxins (250 IE.) 26 ccm von 735 IE.

Auch bei Verwendung von Natriumsulfat als Fällungsmittel verhalten sich Sera mit hohem Antitoxingehalt anders als geringwertige Sera.

Beispiele: 1. Serum mit 175—250 IE.: Ausfällung des gesamten Antitoxins durch 18 Proz. Natriumsulfat. 2. Serum mit 1000 IE.: Filtrat enthält auch mit 22 Proz. Natriumsulfat noch Antitoxin.

Bei einem Vergleich mit den bei Normalserum erhaltenen Grenzen zeigt sich, daß das Antitoxin des Immunserums die Fällungsgrenzen mit keinem der Globuline des Normalserums gänzlich gemein hat (woraus BRUNNER & PINKUS zu schließen geneigt sind, daß die Antitoxine nicht einheitlich sind).

Bei Nachprüfungen dieser Methode hatten PRIBRAM & H. BERGER (zitiert bei PRIBRAM) günstige Erfolge: es gelang ihnen, minderwertige Sera auf das 3-fache zu konzentrieren. Sie empfehlen, nur einen Teil des geringwertigen Serums einzuengen, da die Konzentrierung eine starke Viskosität der Flüssigkeit zur Folge hat.

Auch KRETZ fand die Methode unter Umgehung einer Reihe von Schwierigkeiten bei Konzentrierung der Antitoxine aus größeren Serumquantitäten brauchbar, so daß ein hundertfaches Serum auf 5—600-faches konzentriert werden konnte, allerdings unter beträchtlichem Verlust der absoluten Antitoxinmengen.

Versuche zur weiteren Reinigung des Antitoxins.

Die Beobachtungen, daß Immunseren trotz starker Fäulnis noch ihren Wirkungswert besitzen (PFEIFFER & PROSKAUER bei Choleraserum, BEHRING bei Diphtherieantitoxin u. a. m.) haben dazu geführt, durch Verdauung der Seren die darin befindlichen Eiweißkörper zu beseitigen.

PFEIFFER & PROSKAUER berichten über Verdauung durch Pepsin in milchsaurer Lösung und Pankreatin, Zusatz von Thymol oder Kampfer. Verdünnung der Seren auf das 5—10-fache, Dauer der Verdauung 12—24 Stunden. Dabei traten große Verluste an Antikörpern auf.

Erfolglose Versuche, die Antitoxine von den Eiweißkörpern zu trennen, sind von BRIEGER und seinen Mitarbeitern COHN und BOER mitgeteilt. Von PICKs Versuchen gilt das gleiche: er befolgte JACOBYS[3] Methode, die dieser bei der Isolierung des Salicylaldehyd oxydierenden Fermentes anwandte (Uranylacetatfällung), und unterzog außerdem das durch Ammonsulfatfällung isolierte Diphtherieantitoxin der Verdauung, nachdem BELFANTI & CARBONE derartige Versuche schon mit dem nicht isolierten Antitoxin vorgenommen hatten. Neuntägige Verdauung mit GRÜBLERschem Trypsin vernichtete zwei Drittel des Antitoxingehaltes, mit dem völligen Abbau aller genuinen Eiweißkörper scheint auch der Antitoxingehalt völlig vernichtet zu werden. Da jedoch eine fünftägige Verdauung mit dem gleichen Trypsinpräparat die antitoxische Wirkung nicht oder nur wenig beeinflußte, so ist doch anzunehmen, daß der aktive Anteil dem tryptischen Ferment gegenüber sich stärker resistent verhält als andere zum Pseudoglobulin gehörenden Bestandteile (diese Beobachtung steht auch im Einklang mit der von DZIERZGOWSKI konstatierten Resistenz des Antitoxins gegen Pankreassaft).

PRÖSCHERS Angaben, daß es möglich sei, durch Einwirkung von Pankreaslösung bei 32°, Ausfällung mit Ammonsulfat bei Halbsättigung und Dialysieren ein eiweißfreies Diphtherieantitoxin zu gewinnen, sind nicht bestätigt worden.

BRIEGER erhielt nach der PRÖSCHERschen Methode selbst bei Ausdehnung der Pankreatinverdauung auf 3 Wochen und auch nach erneuter Hinzufügung von frischem Pankreas kein eiweißfreies Antitoxin, der Schutzwert war auf die Hälfte zurückgegangen. Auch Papayotin, das die Schutzkraft erheblich herabsetzte, vermochte das Antitoxin nicht von den Eiweißstoffen zu isolieren.

Von neueren Verfahren der Konzentrierung sind zu erwähnen die Methoden von GIBSON, sowie BRIEGER & KRAUSE.

GIBSON bedient sich des Ammoniumsulfats.

Zu geringwertigem Serum werden gleiche Teile einer gesättigten Lösung von Ammoniumsulfat (pur. cryst. MERCK) unter Umrühren zugesetzt. Man läßt 1—2 Stunden stehen und bringt den Niederschlag auf Faltenfilter, löst ihn durch

das gleiche Volumen Wasser, wie die Ausgangs-Serummenge betrug. Die durch Gaze — zur Beseitigung des Filterpapiers — filtrierte Lösung wird wiederum mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung in der eben erwähnten zum Lösen benutzten Menge Wassers behandelt. Dieser Niederschlag wird ebenfalls auf Filter gebracht und mit gesättigter Kochsalzlösung (in der doppelten Menge des Volumens des Ausgangsserums) ausgezogen. Filtration durch Gaze. Der Auszug bleibt über Nacht stehen, darauf Absaugen und Filtrieren der Lösung (sie enthält die toxinhaltigen Globuline). Das Ungelöste wird nochmals mit Kochsalzlösung ausgezogen, der Auszug zu obigem hinzugefügt. Nun Fällung der Auszüge mit 0,25 Proz. Essigsäure, der Niederschlag wird auf Faltenfilter gesammelt und zwischen dicken Fließpapierlagen durch Aufsetzen von Gewichten gepreßt und sodann 12 Stunden in fließendem Wasser dialysiert. Vorsichtig neutralisieren mit Natriumkarbonat, 2—3 Tage weiter dialysieren (nach geringem Chloroformzusatz). Nach beendigter Dialyse filtrieren durch Papier, versetzen mit 0,25—0,5 Proz. Kochsalz, filtrieren durch Berkefeld.

Nach der Gibsonschen Methode gehen ca. $^1/_5$ der ursprünglichen Antitoxine zu Verlust, dafür erhält man eine 2—3-fache Konzentration des Antitoxins (Beispiel: 9000 ccm Serum [300 IE.], nach Einengung 3320 ccm Serum [700 IE.]).

Eine weitere Konzentration (auf das 5-fache) gelang Gibson & Banzhaf, indem sie zu dem antitoxinhaltigen Pferdeblutplasma steigende Ammonsulfatmengen stufenweise zusetzten und den Niederschlag wie oben mit Kochsalz weiter lösten. Die höheren Fraktionen enthalten in der Einheit Globuline weit mehr Antitoxin als die niedrigeren.

Eine neuere Methode zur Reinigung und Konzentrierung des Diphtherieserums empfehlen Brieger & Krause, die von der Beobachtung ausgehen, daß man mit Kochsalz in dem mit Wasser verdünnten Serum einen reichlichen Niederschlag und einen ebensolchen in unverdünntem, mit Kochsalz bei Zimmertemperatur übersättigten Serum erhält: in beiden Fällen erwies sich der Niederschlag antikörperfrei, die Lösung enthielt ihn unvermindert.

Methode: Diphtherieserum wird mit gleicher Menge sterilen destillierten Wassers verdünnt, mit neutralem Ammoniumsulfat gefällt, der Niederschlag mit 10-proz. wässeriger Glyzerinlösung gelöst und mit überschüssigem Chlornatrium behandelt. Der Niederschlag wird von der Lösung, die den ursprünglichen Schutzwert besitzt, getrennt. Einleitung von Kohlensäure in diese Lösung bedingt einen Niederschlag, der abfiltriert wird (er ist antikörperfrei), das Filtrat enthält den Antikörper, der nur eine geringfügige und bei Verwendung großer Ausgangsmengen noch erheblich einzuschränkende Verminderung aufweist. Wie die Stickstoffbestimmung des Ausgangsmaterials und des gereinigten Präparats ergab, enthielt das letztere 75 Proz. weniger Gesamtstickstoff, ein außerordentlich günstiges Resultat.

Setzt man tropfenweise eine 1-proz. Ameisensäure unter Umrühren zu dem Filtrat, so tritt eine weitere Fällung von Körpern ein, die keine Beziehungen zu dem Immunkörper zu haben scheinen.

Entgegen anderen Autoren beobachteten Brieger & Krause keine Schädigung des Immunkörpers im Diphtherieserum durch freie, chemisch reine Salzsäure, wenn der Chlorgehalt gleich dem der physiologischen Kochsalzlösung war (also ca. $^1/_6$-normal HCl).

Die Frage, ob das Diphtherieantitoxin ein Globulin ist, oder bei Fällung des Globulins lediglich mechanisch mitgerissen wird, konnte auch durch die Präzipitationsversuche von Atkinson & Banzhaf nicht entschieden werden: werden Kaninchen mit Globulin aus Normalserum vorbehandelt, so fällt dies Präzipitin (Antiglobulin) das Diphtherieantitoxin aus Lösungen ebenso aus wie ein Präzipitin, das nach Injektion von dem aus Diphtherieserum gewonnenen Globulin erhalten wurde. Für die Gewinnung der Globuline waren die Sera 15 Stunden lang bei 56° C gehalten worden, um Pseudoglobulin in Euglobulin so weit wie möglich überzuführen (danach Halbsättigung mit Ammoniumsulfat usf.).

Mit Hinblick auf die in der Immunitätstechnik geübte Erwärmung der Sera zum Zweck der Inaktivierung sei erwähnt, daß nach L. Moll alle Sera nach halbstündigem Erwärmen auf 56° eine Globulinzunahme (ohne Alkalialbuminatbildung) zeigten. L. Moll gibt eine Zusammenstellung der im Kaninchenserum eintretenden quantitativen Veränderungen bei einstündigem Erwärmen auf 58° (überall Euglobulinvermehrung, bei einzelnen auch Pseudoglobulinvermehrung, überall Albuminverminderung). Aus dem Albumin wird durch das Pseudoglobulinstadium Euglobulin. Hammarsten hält das nicht für einen wahren Uebergang des Albumins in Globulin und betont, daß gerade aus dieser Beobachtung folge, wie wenig geeignet die Löslichkeits- und Fällbarkeitsverhältnisse zu einer schärferen Trennung der Eiweißstoffgruppen seien.

b) Darstellung der Antitoxine aus Milch.

Die Konzentrierung der in Milch tetanusimmunisierter Ziegen befindlichen Antikörper gelang Brieger & Ehrlich mit dem hier zum ersten Mal ausgeführten Prinzip der fraktionierten Fällung, nachdem sie festgestellt hatten, daß nach Abscheidung des Kaseins die Molke die Schutzkörper der Milch enthält. Am meisten geeignet erwies sich Ammoniumsulfat, ferner Magnesiumsulfat, wenig geeignet Natriumsulfat.

Die Antikörper werden mit dem ersten Anteil der Fällung, die durch 27 bis 30 Proz. Ammoniumsulfat erreicht wird, niedergeschlagen, das Filtrat enthält nur spärliche Reste des Antikörpers, obwohl es stark eiweißhaltig ist. Der Niederschlag wird in Wasser gelöst, dialysiert, filtriert und in flachen Schalen bei 25° im Vakuum eingedunstet. 1 Liter Milch ergab ca. 1 g einer gelblichweißen, transparenten Substanz von 14 Proz. Ammoniumsulfatgehalt, die sich leicht löslich in Wasser, namentlich auch in Natronlauge oder Soda verhielt. Sie wirkte 400—600mal so stark als die Milch.

Brieger & Cohn beobachteten aber dann, daß das gleiche Verfahren bei hochwertiger Milch höchstens eine 100-fache Konzentration zuließ. Sie erhöhten deshalb das Ammoniumsulfat auf 32 Proz., wodurch freilich auch die Menge des unwirksamen Eiweißes vermehrt wurde.

Der Niederschlag wird sofort gelöst und mit basischem Bleiacetat versetzt (dabei muß die Lösung schwach alkalisch sein, in sauren Lösungen wird der Antikörper ausgefällt). Der voluminöse Bleiniederschlag wird mehrfach mit schwach alkalischem Wasser ausgewaschen, Filtrat und Waschwasser werden mit Ammoniumsulfat gesättigt, der Niederschlag in wenig Wasser gelöst. Der nunmehr nach Sättigung mit Ammoniumsulfat erhaltene Niederschlag wird auf Ton gestrichen und im Vakuum getrocknet. Zur Befreiung von Salzen wird der feingepulverte Niederschlag in reinem Chloroform geschlemmt: nach sorgfältigem Durchschütteln sammelt sich das Salz am Boden, der leichte Antikörper an der Oberfläche und kann abgeschöpft oder abfiltriert werden. Diese Schlemmmethode vermeidet die Verluste der Dialyse, sterilisiert zugleich die entfettete Substanz und erspart das Eindampfen im Vakuum, da der Niederschlag gut trocknet.

Die Konzentration bei diesem Verfahren war 300—400-fach. Eine noch weitergehende Konzentrierung (600-fach) erreichten Brieger & Cohn durch sukzessive Sättigung des durch Blei gereinigten Milchpräparates mit Kochsalz, phosphorsaurem Natron und Ammonsulfat, alle anderen geprüften Reagentien — Säuren, Metallsalze, Hydroxyde, phosphorsaure Ammoniakmagnesia usf. — erwiesen sich gegenüber den Neutralsalzen als ungeeignet, Alkohol schädigte das Antitoxin.

Da im Ziegenimmunserum und in der Ziegenmilch das Antitoxin an das Euglobulin gebunden ist, dieses aber wasserunlöslich ist und bei der Dialyse ausfällt, so erklären sich diese Verluste, die Brieger & Cohn sowie Wassermann bei Konzentrierung des Antitoxins aus Ziegenmilch durch Ammonsulfat und Dialyse hatten.

Um eine quantitative Ausbeute des Diphtherieantitoxins und zugleich ein bakterienfreies Präparat zu erhalten, hat A. Wassermann die Methode von Brieger & Cohn abgeändert.

Die unter möglichst aseptischen Kautelen gewonnene, in sterilen Gefäßen aufgefangene Milch wird sofort, eventuell durch Zusatz von 20 ccm normaler Salzsäure auf 1 Liter Milch mit der gerade zur schnellen Gerinnung ausreichenden Menge Labfermentes versetzt. Nach erfolgter Kaseinabscheidung wird die Molke abgegossen und mit Chloroform gründlich durchgeschüttelt. Beim Stehen senken sich u. a. die mit Chloroform beschwerten Fettkügelchen zu Boden. Die klare, bakterien- und fettfreie Molke, die monatelang konstant wirksam bleibt, wird mit 30—33 Proz. Ammoniumsulfat versetzt, der abfiltrierte Niederschlag im Vakuum auf Tonteller eingeengt, von überschüssigem Ammoniumsulfat durch Abpressen befreit und in Wasser, je nach der gewünschten Konzentration, gelöst.

Die Methode dient zur Konzentrierung des Diphtherieantitoxins einer an und für sich hochwertigen Milch. Da die Dialyse wegfällt, ist sie einfacher zu handhaben, die Menge des verbleibenden Ammonsulfates ist gering, so daß sie z. B. für die Verwendung des Präparates beim Menschen nicht störend wirkt.

II. Phyto-Antitoxine.

Antiricin.

Jacoby[1] konnte das Antiricin (Antitoxin + Antiagglutinin) mit Ammonsulfat aus dem Serum hochimmunisierter Kaninchen fraktioniert aussalzen, und zwar geht es quantitativ in die Fraktion über, die zwischen $^1/_4$ und $^1/_3$ Sättigung mit Ammonsulfat ausgefällt wird. Die Fraktion umfaßt nur einen kleinen Anteil der kolloiden Serumbestandteile. Eine weitere Befreiung von fremden Beimengungen gelang Jacoby durch Behandlung des fraktionierten Giftes mit Trypsin:

10 ccm einer durch Ammonsulfatfraktionierung gewonnenen Antitoxinlösung wurde 7 Tage mit 20 ccm einer fraktionierten Trypsinlösung im Brutschrank gehalten. (Diese Trypsinlösung gewann Jacoby[2] durch Aussalzung von autolysierten Rinderbauchspeicheldrüsen bei $^{65}/_{100}$ Sättigung mit Ammonsulfat, die ausfallenden Eiweißkörper wurden entfernt, das Ferment durch Ganzsättigung mit Ammonsulfat und Dialyse aus dem Filtrat isoliert.) Durch Eintragen von Ammonsulfatlösung wurde dann eine Salzsättigung von 33 Proz. hergestellt, der Niederschlag mit entsprechender Salzlösung gewaschen, schließlich wieder in 10 ccm Wasser gelöst.

Die längere Einwirkung von Trypsin beeinflußte weder die Fällungsgrenzen noch die spezifische Antikörperwirkung.

III. Antihämotoxine.

v. Eisler stellte fest, daß bei fraktionierter Ammonsulfatfällung des Globulins aus Normalseren und antihämotoxischen Immunseren vom Pferd (Tetanusimmunserum) sowohl das Euglobulin als auch das Pseudoglobulin des Immunserums das hemmende Prinzip enthalten (während im Normalserum lediglich das Euglobulin hemmend wirkt). Die Seren waren vorher mit Aether extrahiert: die Aetherextrakte wirkten ganz gleich hemmend, das normale und Immunserum unterschieden sich nicht bezüglich ihres Cholesteringehaltes, die beiden extrahierten Seren hemmten ebenso stark wie vorher. Der N-Gehalt

der beiden salzfreien Fraktionen (Kjeldahl) ergab für beide Seren die gleichen Mengen Euglobulin und Pseudoglobulin (und zwar ungefähr viermal soviel Euglobulin als Pseudoglobulin).

Alle übrigen Angaben über Darstellung von Antihämotoxinen beziehen sich auf diejenigen von Normalseren (s. Pribram & Russ, Kraus-Levaditi, Handbuch der Immunitätsforschung, Bd. II, S. 234).

IV. Antifermente.

Die Darstellung von immunisatorisch erzeugten Antifermenten deckt sich mit der der Normalantifermente. Uebersicht bei E. Pribram. Literatur auch bei Döblin, ferner J. Bauer.

Die Anti-Bakterienproteasen im Serum von Immunkaninchen (vorbehandelt mit Prodigiosus- und Pyocyaneusprotease) fand K. Meyer[3] bei der Fraktionierung durch Halbsättigung mit Ammonsulfat nahezu quantitativ in der Globulinfraktion. Die Antiproteasen erfuhren eine geringe Abschwächung durch 6-stündige Extraktion mit Petroläther (im Gegensatz zu den Immunhämolysinen, die, wie K. Meyer zeigte, nach Extraktion mit Fettlösungsmitteln vollwirksam blieben).

V. Bakteriolysine.

Die Darstellung der im Choleraimmunserum vorhandenen bakteriolytischen Stoffe ist von R. Pfeiffer & Proskauer versucht worden.

Nach Ausfällung der Globuline durch Behandlung des Serums mit Magnesiumsulfat erhielten sie je nach der Menge des verwendeten Salzes verschiedene Resultate: in dem einen Falle (Ueberschuß von Magnesiumsulfat, 24 Stunden bei 35°) waren in dem ausgefällten Globulin 80 Proz. der im Serum vorhanden gewesenen Choleraantikörper zu Verlust gegangen, das die Serumalbumine enthaltende Filtrat war antikörperfrei; im anderen Falle (Magnesiumsulfat in der gerade zur „quantitativen Ausscheidung der Globuline" erforderlichen Menge) trat ein Verlust an Antikörpern nicht ein, sie waren sowohl im Globulinniederschlag als im Serumalbuminfiltrat gleichmäßig zu finden.

Bei Dialysierungsversuchen zeigte sich, daß die Choleraantikörper nicht dialysierbar sind und daß nach Trennung der Globuline von den Serumalbuminen der dialysierten Flüssigkeit durch scharfes Zentrifugieren und Dekantieren die Globuline sowohl als auch die Serumalbumine (diese in verstärktem Maße) die wirksamen Substanzen in sich schlossen.

Die Versuche, die Eiweißkörper unlöslich zu machen und die aktive Substanz durch Lösungsmittel abzuspalten, führten zu keinem Ergebnis (Behandlung mit Alkoholäther, Aceton, Chloroform). Verdauung mit Pepsin, Pankreatin zeigte, daß das Serum, aus welchem die Globuline und Serumalbumine durch Ueberführung in Albumosen (Globulosen), Peptone und andere Produkte der Verdauung entfernt sind, immer noch eine erhebliche Wirksamkeit besaß.

Pfeiffer & Proskauer schließen, daß die bakteriolytischen Choleraantikörper nicht zu der Gruppe der Globuline und Serumalbumine, auch nicht zu den Nukleoalbuminen und Albumosen und Peptonen Kühnes gehören können.

Versuche, das Verhalten des bakteriolytischen Choleraimmunserums (Ziege) zu den Serumeiweißkörpern festzustellen, finden wir weiterhin bei Pick, der zu abweichenden Resultaten kam.

Mit der auf S. 218 geschilderten Globulintrennungsmethode konnte er eine fast vollständige Ausfällung der Antikörper in der I. Fraktion entsprechend der Euglobulinfällung erhalten, dem Albumin haftete keine bakteriolytische Wirkung an. Zur Zeit der Versuche von Pfeiffer & Proskauer war es noch nicht bekannt, daß durch Dialyse nur ein Teil der Globuline ausfällbar ist, außerdem sind die

Resultate von Pfeiffer & Proskauer, wie Pick glaubt, durch die häufig unzuverlässige Fällung bei Sättigung von Lösungen mit festem Magnesiumsulfat bedingt.

Die abweichenden Resultate, die A. Wolff bei Nachprüfung der Pickschen Versuche erhielt, beruhen wohl auf Verschiedenheiten der Methodik, es wäre aber erwünscht, daß systematische Versuche hierüber wieder aufgenommen würden.

Hervorzuheben ist, daß Wolff durch Halbsättigung des Choleraserums mit Ammonsulfat ca. 50 Proz. der bakteriolytischen Antikörper verlor, er empfiehlt, die Dauer der Einwirkung des Ammoniumsulfates möglichst abzukürzen. Die schädliche Einwirkung des Ammonsulfats ist er geneigt auf Verwendung sauer reagierenden Ammoniumsulfates zu beziehen, das nach dem Vorgange von Brieger durch Ammoniumkarbonat abzustumpfen ist.

Verhältnismäßig selten sind die Autoren, welche Antikörper darstellen wollten, denjenigen Methoden gefolgt, welche zur Gewinnung der Fermente zur Verfügung stehen.

Die Darstellungsmethode des Fibrinferments ist im großen und ganzen von R. Pfeiffer & Proskauer ebenfalls bei Choleraserum eingeschlagen worden.

Ein der 24-stündigen Dialyse im strömenden Wasser unterworfen gewesenes Serum wurde in die 25-fache Menge seines Volumens wasserfreien Alkohols eingetragen und darin im Dunkeln über 4 Monate aufbewahrt, indem der Alkohol von Zeit zu Zeit dekantiert und durch frischen ersetzt wurde. (Die Dialyse war angewendet worden, um die Salze zu entfernen und so die Globuline beim Extrahieren des Niederschlages mit destilliertem Wasser auszuschalten.) Der gesamte Niederschlag besaß nahezu das gleiche Auflösungsvermögen für Choleravibrionen wie das Ausgangsserum. Er wurde im Vakuum vom Alkohol befreit und, um möglichst wenig Eiweißstoffe aus ihm auszulaugen, mit salzfreiem (destilliertem) Wasser 24 Stunden in Berührung gelassen, zentrifugiert, diese Operation wurde zweimal wiederholt. Der so erlangte wässerige Auszug enthielt keine Globuline, Spuren von Eiweißstoffen und gab mit Wasserstoffsuperoxyd und Guajaktinktur für die Enzyme als charakteristisch geltende Blaufärbung. Auch das Ungelöste enthielt noch wirksame Substanz selbst nach weiterer Auslaugung.

VI. Hämolysine.

Das vom Kaninchen gewonnene Rinderbluthämolysin fand Fuhrmann sowohl in der Euglobulin- als in der Pseudoglobulinfraktion. Das Serumalbumin hatte keine Wirkung.

Nach den negativen Versuchen von Clarence Quinan (Dialyse und Einleiten von CO_2) hat dann insbesondere K. Meyer[1,2] die Versuche, das Immunhämolysin darzustellen, wieder aufgenommen.

K. Meyer fand zunächst bei Anwendung der Dialyse (Schilfschläuche), daß ein Unterschied besteht, ob man von Trockenserum oder flüssigem Serum ausgeht, im letzteren Falle war etwa $^1/_4$ des Hämolysins auch in den Globulinniederschlag übergegangen, während bei Dialysieren des in NaCl gelösten Trockenserums die Dialysierungsflüssigkeit allein wirksam war.

Bei fraktionierter Fällung mit Ammonsulfat (Drittel- und Halbsättigung) enthielt die Albuminfraktion keinen Immunkörper, dieser erwies sich vielmehr als gebunden an den Globulinanteil, und zwar besaß die Pseudoglobulinfraktion etwa die doppelte Wirksamkeit wie die Euglobulinfraktion.

K. Meyer zeigte auch, daß sich durch Fettlösungsmittel (Aether, Petroläther, Aceton, Chloroform, Benzol) — im Widerspruch zu den Auffassungen v. Eislers — Hämolysin aus dem trocknen und flüssigen Immunserum (das flüssige Hammelblut-Kaninchenimmunserum wurde auf das fünffache mit Kochsalzlösung verdünnt) nicht extrahieren läßt (Extraktionsdauer 6 Stunden im Gadamerschen Extraktions- oder im Schüttelapparat). Eine Ausschüttelung des hämolytischen Immunkörpers mit Olivenöl und Lecithin- (Merck) Chloroform aus einer wässerigen Lösung gelang nicht. Mit Uranylacetat (Methode von Jacoby & Rosell) behandelt verlor der Immunkörper seine Wirksamkeit. Das

Hämolysin ist durch das elektro-negative Kaolin sowohl wie durch das elektro-positive Eisenhydroxyd auszufällen, der Niederschlag war aber unwirksam.

Eine Reinigung durch Pepsin erwies sich als unmöglich, da Salzsäure bei Bruttemperatur an und für sich schon das Hämolysin zerstörte. Von Wichtigkeit aber ist die Beobachtung K. MEYERS, daß Pankreatin (Rhenania) das Serum bei neutraler Reaktion in 24 Stunden unwirksam machte.

Salzsaure Extrakte von Immunkörpern stellten L. v. LIEBERMANN & B. v. FENYVESSY dar:

3 ccm bei 56° C inaktivierten Immunserums (Serum von Kaninchen, die mit Schweineblut vorbehandelt waren) werden mit 6 ccm einer 5-proz., aus gewaschenen Schweineblutkörperchen bereiteten Blutkörperchenemulsion vermischt und nach $^3/_4$-stündigem Stehen bei 37° scharf zentrifugiert. Mehrmaliges Abspülen der abzentrifugierten Blutkörperchen mit physiologischer NaCl-Lösung (ohne Schütteln). Der agglutinierte, abgespülte Rückstand wird mit 3 ccm einer $^1/_{100}$-Normalsalzsäure (mit physiologischer NaCl-Lösung bereitet) so lange geschüttelt, bis die ursprünglich rote Flüssigkeit einen bräunlichen Stich bekommt. Zentrifugieren. Der zentrifugierte Rückstand kann noch einmal mit 1—2 ccm $^1/_{100}$-n HCl aufgeschüttelt und abzentrifugiert werden, um die Ausbeute zu vermehren. Die abgegossenen klaren, braun gefärbten Lösungen werden mit $^1/_{100}$-n. NaOH (mit 0,9 Proz. NaCl bereitet) genau neutralisiert. Abzentrifugieren des beim Neutralisieren entstandenen Niederschlags, Auswaschen mit 2—3 ccm NaCl-Lösung. Die vereinigten Lösungen werden bis zur deutlichen sauren Reaktion mit $^1/_{25}$-n. Salzsäure versetzt und mit reinem Aether ausgeschüttelt. Die entstehende gleichmäßige Emulsion wird zentrifugiert: Die gefärbte Aetherschicht gießt man ab. Die darunter befindliche gelatinöse Masse wird mit dünnem Glasstab durchbohrt, durch die entstandene Oeffnung gießt man die saure wässerige Lösung ab: Diese enthält die Immunkörper, sie wird mit $^1/_{100}$-n. NaOH genau neutralisiert, Schütteln mit Aether, Zentrifugieren, Trennung der drei Schichten wie oben. Die klare neutrale wässerige Lösung wird im Vakuum zur Hälfte eingeengt und durch Zusatz von Aqua dest. auf ihr ursprüngliches Volumen und nach Entnahme einer Teilprobe zur NaCl-Bestimmung auf den Salzgehalt von 0,9 Proz. gebracht. Die Lösung wirkt spezifisch agglutinierend und hämolytisch, sie erweist sich als eiweißfrei. Eine weitere Reinigung ist durch Dialyse möglich.

Ueber die Darstellung des Hämolysins aus Normalserum liegen Versuche von BUCHNER, ferner von LANDSTEINER vor.

VII. Agglutinine.

Die ersten Versuche, aus Immunserum die Agglutinine zu gewinnen, gehen auf WIDAL & SICARD zurück, die nach Fällung mit Magnesiumsulfat Agglutinin in dem Globulin fanden, ebenso in den Niederschlägen, die sie durch Kochsalz im Oxalatblut oder durch Essigsäure in Immunmilch gewannen, sie schließen, daß das Typhusagglutinin an verschiedene Eiweißkörper (Serumglobuline, Fibrinogen, Kasein) fest gebunden sei.

WINTERBERG (1899) zeigte, daß das Typhusagglutinin nicht oder nur in Spuren dialysiert, daß es ferner durch Alcohol absol. zusammen mit den übrigen Eiweißkörpern ausgefällt wird, und zwar, sofern genügende Alkoholmengen genommen werden, quantitativ.

Schon nach kurzer Berührung schädigt der Alkohol das Agglutinin. Trocknet man den alkoholischen Niederschlag über Schwefelsäure, so wird es völlig unwirksam (WIDAL & SICARD, WINTERBERG). Sofern man aber den Alkohol von dem Niederschlag bald entfernt (Nachspülen mit Aether), bleibt dieser lange wirksam (im pulverförmigen Zustande im Exsikkator noch nach 6 Monaten bei Lösung in physiol. Kochsalzlösung unvermindert agglutinierend, WINTERBERG).

Auch die Versuche WINTERBERGS mit anderen Eiweißfällungsmitteln — Salzen wie Magnesiumsulfat, Ammoniumsulfat, Natriumsulfat, Natrium nitricum, Natrium aceticum, Kalium aceticum, Kaliumchlorid, ferner Salzen der Schwermetalle ($CuSo_4$, ZnCl) ergaben, daß

das Agglutinin den Eiweißkörpern des Serums, speziell den Globulinen, anhaftet.

Besonders stark zerstörend auf das Agglutinin wirkt Kaliumacetat. Wählt man Salze der Schwermetalle, z. B. $CuSO_4$, so ist zu berücksichtigen, daß das Agglutinin im Ueberschuß des Fällungsmittels sich wieder löst.

Nach WINTERBERG wirken Mineralsäuren (Salzsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure) schwer schädigend auf das Typhusagglutinin. Essigsäure bleibt ohne Einfluß, falls sie in solcher Menge zugesetzt wird, daß die Reaktion eben sauer ist, ein Ueberschuß vernichtet das Agglutinin. Pepsin und Trypsin vermögen nach WINTERBERG das Typhusagglutinin ebensowenig zu verdauen wie Papayotin, wenn diese Fermente 24 Stunden lang (bei 37°) einwirken.

Natronlauge, Kalilauge schädigen nach WINTERBERG das Typhusagglutinin fast in demselben Maße wie die Säuren. Auch Natriumkarbonat zerstört es.

WINTERBERG vergleicht in einer tabellarischen Uebersicht das Verhalten der Globuline des Blutserums mit dem Verhalten des Agglutinins gegenüber den erwähnten Salzen: hierbei zeigte sich zwar im allgemeinen eine übereinstimmende Aussalzbarkeit, aber es bestehen auch auffallende Differenzen, so steht z. B. der nahezu vollständigen Globulinausfällung durch Natriumnitrat eine nur etwa 50-proz. Ausfällung der Agglutinine gegenüber.

Heute haben diese Befunde nichts Auffallendes mehr, seitdem wir wissen, daß das Globulin nichts Einheitliches, sondern ein Gemenge darstellt.

Vergleicht man (PRIBRAM im Handbuch von KRAUS-LEVADITI, Bd. II, S. 87) die Resultate von WINTERBERG mit der von PORGES & SPIRO gegebenen Uebersicht (Fällungsgrenzen der Globuline), so werden die WINTERBERGschen Befunde erklärlich. Wie schon PRIBRAM ausführt, zeigt die Gegenüberstellung, daß WINTERBERG durch einzelne Neutralsalze nur eine unvollständige Fällung der Pseudoglobuline erhielt. Wendet man die Korrektur an, so ist aus den WINTERBERGschen Versuchen zu folgern, daß das Typhusagglutinin fast vollständig sich im Pseudoglobulin fand.

PICK hat dann die Frage eingehend bearbeitet, in welcher Weise das Agglutinin auf die Serumglobuline verteilt ist.

Verteilung des Agglutinins im Serum verschiedener Tiergattungen.

Agglutinin gegen	Tiergattung	Fibrinoglobulin	Euglobulin	Pseudoglobulin	Albumin
Typhus	Pferd	0	kleine Mengen	fast alles	0
	Ziege	0	fast alles	Spuren	0
	Kaninchen	0	alles	0	0
	Meerschweinchen	0	„	0	0
Cholera	Pferd	0	„	0	0
	Ziege	0	„	0	0

Es zeigt sich also, daß im Typhusimmunserum vom Pferd das Agglutinin die Fällungsgrenzen des Pseudoglobulins, im Choleraimmunserum vom Pferd aber die Fällungsgrenzen des Euglobulins aufweist. Bei den anderen Tieren entspricht das Agglutinin den Fällungsgrenzen nach ebenfalls dem Euglobulin, ob die Tiere nun gegen Cholera oder Typhus immunisiert waren. Die Fibrinoglobulin- und Albuminfraktionen waren unwirksam.

Es gelang PICK, das Typhusagglutinin des Pferdeimmunserums weitgehend zu reinigen.

Er unterzog die Pseudoglobulinfraktion nach wiederholter Fällung mit Ammonsulfat der Alkoholfällung: 40 ccm Pseudoglobulin wurden mit 60 ccm 95-proz. Alkohols, der leicht mit Soda alkalisch gemacht worden war, gefällt. Der entstandene Niederschlag wurde nach dem Absetzen rasch abfiltriert, gut gepreßt und in 90 ccm mit wenigen Tropfen Sodalösung versetzten Wassers digeriert. Die klar filtrierte Lösung enthielt etwas mehr als $^1/_8$ des ursprünglichen Agglutinationswertes des Serums, war aber sehr eiweißarm, da ja der größte Teil des Eiweißes bei der Alkoholfällung unlöslich geworden war. Diese gereinigte Agglutininlösung enthielt nur Spuren koagulablen Eiweißes, gab schwache Biuretreaktion, positive MILLONsche Reaktion, keine Reaktion nach MOLISCH, keine Schwefelbleiprobe und war ohne Einbuße durch Tonzellen filtrierbar.

Uebrigens muß ein Teil der bei dieser Reinigung verloren gegangenen Agglutinine auf die Wirkung des Alkohols bezogen werden, so daß man in der Tat von einer weitgehenden Befreiung von anhaftenden Eiweißkörpern sprechen kann.

Von Interesse ist, daß, wie PICK gleichfalls feststellt, das Serumagglutinin zumal gegen erhöhte Temperaturen eine beträchtliche Widerstandsfähigkeit aufweist, wenn es eiweißarm ist (ein Unterschied gegenüber den Koagulinen, von denen es sich überhaupt durch einfachere Struktur unterscheidet). PICK konnte das nach wiederholter Salzfällung gewonnene Pseudoglobulin des Typhusimmunserums (Pferd) nach langsamem Erhitzen auf 100° 5 Minuten lang ohne Verminderung der Agglutinine kochen, wenn es zu gleichen Teilen mit gesättigter Harnstofflösung — zur Hinderung der Eiweißgerinnung — versetzt war. Dieselbe Pseudoglobulinlösung wies, wenn PICK sie ohne vorherigen Zusatz von Harnstoff 5 Minuten auf 75° erwärmte und den entstehenden feinflockigen Niederschlag sofort in Harnstoff löste, keine Agglutinine auf: mit der Koagulation der Eiweißkörper ging das Agglutinin zugrunde.

Noch empfindlicher ist das Agglutinin, das mit dem Euglobulin fällt. Wird die Euglobulinlösung des Choleraimmunserums (vom Pferd) 3—5 Minuten auf 73° erhitzt, so sind die Agglutinine zerstört. Zusatz von Harnstoff oder Salz beeinflußt die Haltbarkeit dieses Agglutinins nicht, da es schon vor der Gerinnung des Euglobulins vernichtet war.

Man ist wohl berechtigt, aus diesen Versuchen PICKS zu schließen, daß auch im Serum derselben Tiergattung die Agglutinine gegen verschiedene Bakterienarten in ihrer Widerstandsfähigkeit sich verschieden verhalten.

Das Normalagglutinin des Pferdeserums gegenüber Cholera- und Typhusbakterien verhält sich nach LANDSTEINER & CALVO anders: die beiden Globulinfraktionen zeigten in ihrem agglutinatorischen Vermögen keine wesentliche Verschiedenheit. Das Hämagglutinin des normalen Pferdeserums fällt zum großen Teil mit der Euglobulinfraktion, ein anderer Teil mit dem Pseudoglobulin, eine geringe Portion mit dem Albumin.

Die Immunagglutinine (und Antitoxine) bei Ziegen, Pferden und Kaninchen fanden GIBSON & COLLINS in der Euglobulinfraktion. Bei einem Vergleich des Cholera- und Typhusagglutinins in einem und demselben Pferdeimmunserum konnten sie die von PICK beobachtete Differenz der Fällbarkeit nicht konstatieren.

Die Ansicht von ASAKAWA, daß das Agglutinin (Typhusimmunserum, Kaninchen) nur ein modifiziertes Globulin sei, wird durch die PICKschen Resultate hinfällig. Vgl. hierzu auch PALTAUF, dieses Handbuch, 1. Aufl., Bd. 4, S. 735.

Reinigung des Agglutinins durch Abspaltung mittels des Antigens.

Die ersten Versuche, Immunkörper aus dem Immunserum durch Abspaltung an die agglutinable Substanz zu gewinnen, stammen von HAHN und TROMMSDORFF, sie digerierten die durch die spezifischen Sera agglutinierten Cholera- und Typhusbacillen nach Waschen mit Kochsalzlösung 1 Stunde bei

37° durch $n/_{100}$-Natronlauge oder $n/_{100}$-Schwefelsäure, wodurch die Extraktion eines Teiles des Agglutinins gelang.

Es haben dann LANDSTEINER und JAGIČ eine Reinigung der Agglutinine durch Abspaltung versucht; sie versetzten mit Toluol und Wasser aus Gänseblutkörperchen bereitete Stromata mit Rinderserum. Der kräftig agglutinierte Bodensatz wurde mit Kochsalzlösung gewaschen und dann bei 45° $^1/_2$ Stunde mit Kochsalzlösung digeriert. Die Digestionsflüssigkeit agglutinierte wie das Ausgangsserum, enthielt aber nur ca. 2 Prom. Eiweiß gegenüber 66 Prom. des verwendeten Serums. Diese Agglutininlösungen konnten im Vakuum bei ca. 40° eingedampft werden ohne größere Einbuße der Wirksamkeit, es gelang aus 80 ccm Serum eine Flüssigkeit von dem Volumen 5 ccm zu gewinnen, die 10mal so stark agglutinierte als das Serum. Bei Zusatz von gleichen Teilen konzentrierter Ammonsulfatlösung zu der eingedickten Agglutininlösung enthielt der Niederschlag diesen Antikörper fast vollständig. LANDSTEINER & JAGIC zeigten, daß diese Agglutininlösungen auch Eiweißkörper enthielten, die von den Agglutininen verschieden waren. Es gelang mit dem gleichen Verfahren, auch Bakterienagglutinine und schützende Stoffe durch Absorption aus den Verbindungen dieser Körper mit Bakterienleibern zu gewinnen.

VIII. Präzipitine.

Eine Reindarstellung der Präzipitine ist bisher ebensowenig gelungen, wie die der anderen Antikörper. Das fällende Prinzip wird mit den zur Darstellung der Antitoxine verwendeten Ammoniumsulfatfraktionen ausgesalzen, die Methoden sind die gleichen. Literaturzusammenstellung s. KRAUS, Natur der Präzipitine, dieser Band. Hinzuzufügen ist, daß BANG das Präzipitin mit der Euglobulinfraktion ausfallen und bei der Dialyse in dem wasserlöslichen Teil verbleiben sah. BANG konnte das Präzipitin auch durch Kochsalzsättigung vollständig aussalzen. Eine Reinigung bis zu einem gewissen Grade erzielte BANG dadurch, daß er nach der Salzfraktionierung und Dialyse die Lösung erhitzte: bei 64° koagulierte ein Teil des Eiweißes, das Filtrat enthielt das unveränderte Präzipitin.

Die Frage, einen wie großen Anteil das Präzipitin an der Euglobulinfraktion hat, ist von FRANCESCHELLI bearbeitet worden, er benutzte Magnesiumsulfat als Fällungsmittel: von einer mit physiologischer Kochsalzlösung bei 35° gesättigten $MgSO_4$-Lösung waren ca. 1,5 ccm nötig, um das Präzipitin (Rinderpräzipitin, Laktoserum, Hühnereiweißserum) aus 0,5 ccm Serum zu entfernen. Die Euglobulin-Präzipitinfraktion betrug nicht mehr als 26,3 Proz. des gesamten Proteins, und da ein Serum auf 100 Teile Protein im Durchschnitt 59 Teile Globulin enthält, so ergeben sich 42,8 Proz. Globulin-Präzipitin.

Ueber die Frage der Globulinvermehrung, der physikalischen Konstanten usf. im Präzipitin s. S. 219, 220.

Für Bakterienpräzipitin (Typhusimmunserum von Pferd und Ziege, Choleraimmunserum vom Pferd) ist von E. P. PICK gezeigt worden, daß von den durch Fällung mit gesättigter Ammonsulfatlösung gewonnenen drei Eiweißkörpern (Fibrinoglobulin, Euglobulin, Pseudoglobulin) lediglich die Euglobulinfraktion das fällende Prinzip enthält: innerhalb dieser Fällungsgrenzen des Euglobulins konnte PICK im Typhusimmunserum wiederum zwei durch engere Fällungsgrenzen zu sondernde Körper nachweisen, die mit zwei auf verschiedene Weise aus Typhuskulturen gewonnenen Präzipitinogenen (Alkoholfällungen von Typhusbouillonkultur, ferner Filtrat von Typhuswaschwasser) spezifische Niederschläge gaben.

IX. Komplementbindende Antikörper.

Landsteiner & Müller beobachteten, daß die durch CO_2 aus luetischem und normalem Blutserum ausgefällten Globuline nach Auflösung in Kochsalzlösung Komplementbindungsreaktion mit alkoholischem Herzextrakt geben: durch Inaktivieren (56°) wurde die Hemmung der normalen Globuline abgeschwächt, die der aus luetischem Serum gewonnenen Globuline blieb unverändert. Grosz & Volk konnten diesen Unterschied zwischen luetischem und normalem Serum nicht finden, erhielten aber ebenfalls mit Globulinen (Dialyse bis zur Salzfreiheit), besonders mit Euglobulinen, Hemmung der Hämolyse. Die Globuline aus normalem und luetischem Serum verhielten sich dabei gleich, beide zeigten aber auch Eigenhemmung. Bauer & Hirsch stellten aus dem positiv reagierenden, stark eiweißhaltigen (8 bis 10 Prom. Albumen) Harn eines Luetikers die Globuline dar: nachdem sich Kohlensäure als unbrauchbar zur Ausfällung erwiesen hatte, neutralisierten sie den Harn mit Ammoniak und versetzten ihn mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung. Nach einigen Stunden wurde der gut abgesetzte Niederschlag abzentrifugiert, mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen, wieder zentrifugiert. Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung oder Aqu. dest., bis eine klare Globulinlösung erzielt war (z. B. zu 5 ccm Niederschlag 10—15 ccm Flüssigkeit). Manchmal ging nicht alles Eiweiß in Lösung. Dialysieren der Lösungen (auch der unvollständigen) 5—8 Stunden gegen fließendes Leitungswasser, klar zentrifugieren. Bestimmung des Eiweiß- und Salzgehaltes in dem Zentrifugat. Es ergaben sich ca. 1-proz. Globulinlösungen mit einem Salzgehalt von ca. 1—1,2 Proz. Ammonsulfat. Die Dialyse ist notwendig, weil großer Salzgehalt die Hämolyse allein hemmt, das Dialysieren darf aber nicht allzulange ausgedehnt werden, da sonst ein Teil der Globuline ausfällt und die Eiweißlösungen zu wenig konzentriert werden. Die Untersuchungen ergaben, daß die Globulinfraktion Träger der Wassermannschen Reaktion des Harns war, das Inaktivieren war auf das Endresultat ohne Einfluß. Die Albumine desselben Harns (Ansäuern des Filtrats der Globulinfraktion auf 1 Proz. Essigsäure, Zentrifugieren des Niederschlags, Lösen in destilliertem Wasser, Neutralisieren, Dialysieren) sowie andere Harnglobuline zeigten glatte Hämolyse.

Unabhängig von den eben genannten Autoren hat U. Friedemann systematisch die Eiweißfraktionen des Serums in ihren Beziehungen zur Wassermannschen Reaktion untersucht und dabei positiv und negativ reagierende Tier- und Menschenseren berücksichtigt. Er fällte die Sera durch Halbsättigung mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung, sammelte den Niederschlag auf dem Filter, wusch mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung und löste schließlich in wenig Kochsalzlösung. Niederschlag und Filtrat wurden in Fischblasen zwei Tage lang gegen fließendes Wasser dialysiert. Wiederherstellung des ursprünglichen Salzgehaltes durch Zufügen einer berechneten Menge 20-proz. Kochsalzlösung. Vorher fand Reduktion des Volumens bei 37° im Faustschen Apparat statt, so daß Globuline und Albumine in dem ursprünglichen Serumvolumen zur Benutzung kommen konnten. Es zeigte sich, daß die Globuline der luetischen, aktiven und inaktiven Sera die Wassermannsche Reaktion geben und daß sie an sich nicht antikomplementär wirken (die Globuline vieler normaler

Menschensera geben ebenfalls die WASSERMANNsche Reaktion, in anderen Seris wirkt die Globulinfraktion an sich antikomplementär, in allen aber bindet die durch $^1/_3$ Sättigung mit Ammonsulfat ausgesalzene Euglobulinfraktion an sich Komplement). Normale Albumine und Pseudoalbumine (das sind die nach Ausfällung der Euglobuline zurückbleibenden Albumine) heben die WASSERMANNsche Reaktion luetischer Sera und luetischer Globuline nicht auf (während sie die WASSERMANNsche Reaktion und antikomplementäre Wirkung der normalen Globuline hindern). Nach FRIEDEMANN bedingt Lues eine Veränderung an den Globulinen, welche den normalen Antagonismus zwischen Globulinen und Albuminen stört. Vgl. hierzu auch P. SCHMIDT, sowie Bd. VI.

Darstellung von Antikörpern aus Blutplasma und Leukocyten.

1. Es ist nicht in jedem Falle gleichgültig, ob man zur Darstellung der Antikörper Plasma oder Serum nimmt. Im allgemeinen gilt das Plasma als stärker agglutinierend wie Serum. DREYER & WALKER beobachteten das umgekehrte Verhalten während der Latenz und der Periode der Steigerung der Agglutininproduktion (Kaninchen, B. coli), später zeigte auch in den Versuchen von DREYER & WALKER das Plasma den höheren Gehalt an Agglutininen. Nach nichtspezifischer Stimulation (Injektion heterologer Organismen eine Zeit nach dem Maximum der Agglutininproduktion) wird wiederum der Gehalt des Serums an Agglutininen stärker als der des Plasmas.

Uebersicht über die Methoden zur Plasmagewinnung bei E. P. PICK, Handbuch von KRAUS-LEVADITI, Bd. 1, S. 416.

Verfahren zur Darstellung von Immunstoffen aus Blutzellen sind der Firma KALLE patentiert (1. Aufschließung auf chemischem Wege: das Blut wird in eine 0,85-proz. Kochsalzlösung gebracht, der Spuren von Formalin und Milchsäure oder eine andere Säure zugesetzt sind [z. B. 1000 ccm NaCl-Lösung + 0,02 ccm Formalin + 0,05 ccm konz. Milchsäure]. Es tritt nach einiger Zeit Lösung ein, die Lösung ist zur Dissoziierung zu verdünnen. 2. Aufschließung auf physiologischem Wege: Verdauung des Immunblutes mit Papayotin oder Pankreatin. 3. Aufschließung auf mechanischem Wege: Zerreiben des gereinigten Zellmaterials im Mörser unter Zusatz von gepulverter Holzkohle, aufschlemmen und filtrieren.) D. R. P. 238 162 vom 25. März 1908. Ausgeg. am 20. Sept. 1911.

2. Will man Leukocyten von immunen Organismen auf Antikörper prüfen, so bedient man sich zur Darstellung der Antikörper derselben Verfahren wie bei der Prüfung auf Normalantikörper.

Die Methoden der Leukocytengewinnung sind beschrieben bei E. P. PICK, Handbuch von KRAUS-LEVADITI, Bd. I, S. 408 (Methoden von LILIENFELD [Histon], HAMBURGER und HEKMA [Schichtung], VAN DE VELDE [abgetötete Staphylokokken], BUCHNER [Aleuronat], Modifikation des BUCHNERschen Verfahrens nach GENGOU usf.). Ebenda sind auch die Verfahren zur Gewinnung von Leukocytenextrakten aufgezählt (Methoden von BUCHNER, LÖWIT, M. HAHN, SCHATTENFROH, BAIL, VAN DE VELDE usf.); s. auch diesen Band, JOCHMANN.

Für die Prüfung von Leukocyten auf Cholerabakteriolysine bei immunisierten Kaninchen wandten PFEIFFER & MARX neben dem BUCHNERschen Aleuronatverfahren auch die folgende Methode an:

Das Blut wird in sterilen Gefäßen aufgefangen, welche geringe Mengen einer 2-proz. Lösung des oxalsauren Ammoniaks in Wasser enthalten. Sofortiges starkes Zentrifugieren in leistungsfähiger Zentrifuge. Es bilden sich drei scharf abgesetzte Schichten: zu unterst liegen dicht zusammengepreßt die roten Blut-

körperchen, darüber befindet sich eine dünne Lage von weißrötlicher Farbe, welche aus Blutplättchen und sehr zahlreichen Leukocyten besteht, darüber liegt das klare Plasma. Die Leukocytenausbeute ist eine größere, wenn man bei den Tieren — Kaninchen — vor dem Verbluten eine künstliche Hyperleukocytose [z. B. durch intravenöse Injektion von Spermin] erzeugt. Man verfolgt von Stunde zu Stunde durch Zählung mit dem ZEISS-THOMAschen Apparat, wann die Leukocytenzahl stark angestiegen ist, in den Versuchen von PFEIFFER-MARX war das 4 Stunden nach der Sperminînjektion der Fall. Die leukocytenreiche Schicht kann man für sich gewinnen, wenn man sofort nach dem Zentrifugieren das klare Plasma abhebt, die aus roten und weißen Blutzellen bestehenden Zylinder in einer Kältemischung einfriert und dann mit abgekühltem Messer vorsichtig Splitter für Splitter die den gefrorenen Leukocyten entsprechende Schicht abkratzt.

Bei dieser Methode ist zu berücksichtigen, daß die Leukocytenschicht auch rote Blutkörperchen und Blutplättchen in sich schließt. Es ist ferner schon von PFEIFFER & MARX selbst das Bedenken erhoben worden, daß das oxalsaure Ammoniak die Leukocyten vielleicht schädige und daß die Leukocyten sehr bald nach der Entnahme Antikörper an das Plasma abgeben.

Für die Darstellung weiterer Immunkörper aus Leukocyten sind die eben erwähnten Methoden zur Normalantikörpergewinnung benutzt worden.

Darstellung von Antikörpern aus Organen.

Will man den Antikörpergehalt der Organe vergleichen mit dem des Blutplasmas oder überhaupt die Frage bearbeiten, ob Organe an der Antikörperproduktion beteiligt sind, so wird es für eine Reihe von Fällen nicht empfehlenswert sein, die Versuchstiere einer langdauernden Immunisierung zu unterwerfen, sondern einen Immunisierungsmodus zu wählen, der zu einer *raschen Produktion reichlicher Antikörper* führt. Diesen Weg schlugen R. PFEIFFER & MARX ein, als sie die Bildungsstätte der Choleraschutzstoffe beim Kaninchen feststellen wollten.

Junge kräftige Kaninchen von ca. 2000 g Gewicht erhielten je den Kulturrasen von 3mal 24 Stunden alten Cholerakulturen, die mit 5 ccm Bouillon abgespült und durch 1-stündiges Erwärmen in einem auf 70° eingestellten Trockenschrank sterilisiert wurden. Die sterile Emulsion wurde an zwei Stellen subkutan injiziert. (Die Virulenz des Stammes betrug $^1/_{10}$ Oese, Meerschweinchen 200 bis 250 g, Tod in 20 Stunden.)

Zur Gewinnung des *Organparenchyms* behufs Bestimmung des Antikörpergehaltes verfuhren R. PFEIFFER & MARX bei einem Cholerakaninchen (Vorbehandlung s. oben) wie folgt:

Abgewogene Mengen der frisch entnommenen Organe des entbluteten Tieres wurden mit Glaspulver (in späteren Versuchen mit sterilem Sand) in der Reibschale verrieben, bis jede Zellstruktur verschwunden war, und sodann mit abgemessenen Mengen von Bouillon vermischt. Die Emulsionen verblieben zur Auslaugung der Antikörper einen Tag im Eisschrank. Zur Entfernung der Glassplitter wurde zentrifugiert. Der Extrakt wurde bis zur unteren Grenze der schützenden Wirkung (im PFEIFFERschen Versuch) verdünnt.

Resultate von PFEIFFER & MARX (5 Tage nach der Cholerainjektion): bakterizider Titer des Serums 3 mg (Blut 6 mg), Gehirn, Medulla obl., Rückenmark, Speicheldrüsen, Nieren, Nebennieren, Leber, Thymus, Ovarien und Muskeln mehr als 10 mg (Grenzwert nicht bestimmt). Milz wirkte noch in der Dosis von $^3/_4$ mg schützend. Auch in anderen Versuchen war die Milz nach 2 und 3 Tagen wirksamer als das Serum. In der Milz war der Beginn der Antikörperproduktion

schon 24 Stunden nach der Cholerainjektion nachzuweisen. Etwa ebenso wirksam als das Blut sind Knochenmark, Mesenterialdrüsen, Lungen. Aehnliche Resultate erhielt Wassermann bei Typhus, hier ließen sich aus Knochenmark, Milz, Lymphdrüsen, Thymus zu einer Zeit Antikörper darstellen, während welcher Blut und die anderen Organe noch keine Erhöhung des Antikörpergehaltes aufwiesen.

Pfeiffer & Marx fanden bei den oben angeführten Versuchen auch die Agglutinine in der Milz konzentrierter als im Serum.

Im übrigen haben sich zahlreiche Forscher mit der Prüfung von Organen auf Antikörpergehalt befaßt, so Achard & Bensaude (Typhusagglutinin, Mensch), Arloing (Agglutinin gegen Pneumobacillus bovis, Kälber), Widal & Sicard (Typhusagglutinin, Esel), P. Courmont (Agglutinine in Typhusleichen), v. Fodor & Rigler (Typhusagglutinin, Meerschweinchen), v. Emden (Agglutinine gegen B. aërogenes, Kaninchen), Deutsch (Bakteriolysine, Agglutinine, Typhus, Meerschweinchen, Kaninchen), Roth (Typhusagglutinin, Kaninchen), M. Jatta (Typhusagglutinin, Kaninchen), Castellani (Bakteriolysin, Agglutinin, Ruhrbacillen, Kaninchen), Sick (Hämagglutinine) u. a.

Die von diesen Autoren angewandte Methodik weicht nicht oder nur wenig von der geschilderten Pfeiffer-Marxschen ab, besondere Erwähnung verdienen die Verfahren von Emmerich, Jez, Mallannah, Heim, Weil & Braun.

Emmerich preßte das Fleisch und die Organe immunisierter Kaninchen (Schweinerotlauf, Pneumokokken) nach Zerkleinerung in der Fleischschneidemaschine bei einem Drucke von 3—400 Atmosphären aus, hielt den Saft 12 Stunden im Eisschrank und filtrierte durch Chamberland. Aufbewahrung des Preßsaftes im Eisschrank.

Jez stellte aus Milz, Knochenmark, Gehirn, Rückenmark, Thymus typhusimmunisierter Tiere durch Verreiben im Mörser mit Kochsalz, Alkohol, Glyzerin und einer kleinen Menge Karbol ein Extrakt her, dem noch etwas Pepsin zugegeben wurde. Nach 24 Stunden langem Stehen auf Eis wurde das Extrakt filtriert.

S. Mallannah verrieb die Leber, Milz, Lymphdrüsen und Nebennieren pestimmunisierter Kaninchen unter aseptischen Kautelen, strich die Masse in dünner Schicht aus und trocknete sie bei 47^0 über Schwefelsäure 3—6 Tage lang. Die trockenen Partikel wurden im Mörser zerrieben, das in warmem, sterilem Wasser aufgeschwemmte Pulver diente zur Injektion.

Neuerdings hat Heim sich der Frage der Darstellung von Antikörpern aus Organen immunisierter Pneumokokkenkaninchen gewidmet.

Heim schickt die Organe (auch Muskeln) der hochimmunisierten Tiere mehrmals durch eine Hackmaschine, beseitigt die Feuchtigkeit durch Verdampfen bei niederer Temperatur oder durch Ausschütteln mit Acetonäther, der durch Abfiltrieren und Abdunsten entfernt wird. Die trockenen Organfasern werden zerrieben und einigemal mit reinem Aceton ausgeschüttelt, um das Fett möglichst zu entfernen. Das nach Abfiltrierung dem Rückstand noch anhaftende Aceton wird verjagt und dieser zu einem feinen Pulver in einer Kugelmühle zerrieben.

Schneller kommt man zum Ziele, wenn man die in der Hackmaschine zerkleinerten Gewebe in frischem, feuchtem Zustande mit Sand und Kieselgur vermischt und in der hydraulischen Presse bei etwa 300 Atmosphären Druck auspreßt. Der Preßsaft wird wie oben im Verdampfungsapparat oder durch Eingießen in Acetonäther getrocknet, der Rückstand einigemal mit reinem Aceton ausgeschüttelt. Durch kurze Verreibung nach Entfernung des Acetons erhält man dann ein Pulver, das für die nachher einzuleitende Fermentation gut geeignet ist.

Ebenso wie es sich bei Darstellung der verschiedenen Enzyme mittels der Preßmethode gezeigt hat, daß der Preßrückstand noch reich an wirksamen Stoffen ist, so konnte HEIM auch hier noch aus dem Preßrückstand beträchtliche Mengen Antikörper gewinnen; der Preßkuchen wird durch die Hackmaschine geschickt und wie oben weiter behandelt, die Verreibung mit dem vorhandenen Sand und Kieselgur gibt ein für die Fermentation geeignetes Pulver.

Die Fermentation, die eine Zerlegung des Eiweißes herbeiführen soll, wird in der Weise vorgenommen, daß man abgewogene Mengen des Pulvers mit der 10-fachen Menge sterilen Wassers versetzt und der Einwirkung von Pepsin in schwach-saurer und Pankreatin in schwach-alkalischer Lösung oder von anderen Verdauungsfermenten Wochen oder Monate hindurch unterwirft. Toluolzusatz, gut verschlossene Flaschen, Brutschrankwärme, zeitweiliges Umschütteln. Die für die Fermentation günstigste Zeit wird nicht angegeben, aus den Versuchsprotokollen erhellt, daß sie schwankt. In dem einen Falle war schon nach 4-tägiger Fermentation ein brauchbares Präparat gewonnen, in einem anderen noch nicht nach 9 Tagen. Man darf die Fermentation 3 Wochen bzw. so lange fortführen, bis fast kein gröberer Bodensatz mehr vorhanden ist.

Ausgehend von der Beobachtung BEHRINGS, daß das Tetanusantitoxin auch im faulenden Blutserum noch erhalten bleibt, hat HEIM die Fermentation auch durch peptonisierende anaërobe Bakterien eingeleitet und gab zu dem sterilen Wasser Bouillon oder 2-proz. Peptonwasser. Die Methode wird nicht näher angegeben, auch damit konnte HEIM antikörperhaltige Präparate erhalten; nach genügender Fermentation wurde klar abfiltriert, das Filtrat gab (wenn nicht zuviel Pepton zugesetzt worden war) die Biuretreaktion höchstens schwach. Aus dem Filterrückstand lassen sich durch abermalige Fermentation (nach Wasserzusatz) noch weiter Antikörper gewinnen. Zur Filtration ist schon ein einfaches Faltenfilter geeignet, da sich infolge der schleimigen Beschaffenheit des Bodensatzes die Poren verlegen. Trübungen konnten ohne wesentliche Schädigung der Schutzkörper mit kleinen Mengen Alaun (0,2:100) beseitigt werden. Die weitere Filtration durch das HEIMsche Asbestfilter ergab ein bakterienfreies Präparat, das durch Zusatz von Phenol konserviert wird.

Die so erhaltene Flüssigkeit kann im Vakuum oder Verdampfungsapparate noch eingeengt werden. Es konnte beobachtet werden, daß der beim Verdampfen ausfallende Bodensatz weit giftiger wirkt als die beim Zentrifugieren erhaltene überstehende Flüssigkeit, sie ganz zu entgiften gelang nicht (giftige Eiweißabbauprodukte? Bakterientoxine?).

Der Antikörpergehalt der HEIMschen Präparate nimmt beim Aufbewahren ab (Enzyme?).

WEIL & BRAUN schlugen, um die Organe blutfrei und die Zellstoffe in möglichst unveränderter Form zu gewinnen, folgenden Weg ein:

Bei Kaninchen wurde die linke Vena jugul. ext. mit einer Kanüle versehen, die mit einem 37°-warme Kochsalzlösung enthaltenden Gefäß in Verbindung stand. Entbluten des Tieres aus der rechten Carotis, Durchspülen von Kochsalzlösung, bis aus Carotis nur reine Kochsalzlösung ausfloß. Eröffnung von Bauch- und Brusthöhle, Einbinden der Kanüle in Vena cava inf. (Brusthöhle), Ausspülen der Bauchorgane, Durchschneiden der Ven. cava inf. und Aorta abd. oberhalb des Beckenringes. Fortsetzung der Ausspülung bis reine Kochsalzlösung abfloß. Entnahme der Organe, Zerkleinerung, Zusatz von Toluol zu dem durch ein Sieb gedrückten Organbrei. Die halbflüssige Masse wurde auf Glasplatten dünn ausgestrichen und bei 37° getrocknet. Nach einigen Stunden wurden die trockenen Organe abgekratzt und im Exsikkator über Schwefelsäure in Glasbüchsen aufbewahrt. Die Untersuchung erfolgte in den nächsten Tagen in der Weise, daß 0,1 g des Trockenorgans mit 1 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung oder 0,05-proz. Sodalösung in steriler Reibschale fein verrieben und 1—2 Tage im Eisschrank stehen gelassen wurden. Abzentrifugieren. Prüfung der obenstehenden Flüssigkeit auf Agglutinine, Präzipitine, Schutzstoffe. Die Präzipitinprüfung verlief vollständig negativ. Schutzstoffe (bei Hühnercholera-Kaninchen) konnten nur im Knochenmark gefunden werden, die Autoren vermuten, daß dieser Antikörperbefund durch den Blutgehalt bedingt sei. Choleraagglutinin (bei Immunkaninchen) wurde in der Niere, Milz, Knochenmark nachgewiesen; die Wirkung des Milz- und Knochenmarkextraktes wird von den Autoren ebenfalls auf den Blutgehalt zurückgeführt, da diese Organe der Blutbefreiung besonders schwer zugänglich sind. WEIL &

Braun vertreten die Ansicht, daß die im Serum vorkommenden Antikörper und Schutzstoffe, wenn sie überhaupt in Organzellen vorhanden sind, unwirksam oder wasserunlöslich sein müßten (infolge Bindung?).

Literatur.

Achard & Bensaude, Arch. de méd. expér., **1896**, Nr. 6, p. 748.

Anderson, J. F., Treasury Departm. Public. Health and Marine Hosp. Service of the United States Hygienic Labor., Bulletin Nr. 66, p. 66.

Andrejew, P., Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 33, 84 und 377, **1910**.

Arloing, Sem. méd., **1898**, p. 261.

[1] Aronson, H., Berl. klin. Wochenschr., **1893**, S. 625.

[2] — Ebenda, **1894**, S. 453.

Asakawa, N., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 45, 93, **1903**.

Ascoli, A., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 58, 63, **1911**.

Ascoli, A., & Valenti, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere, Bd. 7, 375, **1910**.

Astros & Rietsch, Soc. Biol., T. 52, 337, **1900**.

Atkinson, Journ. of exper. med., Vol. 5, 67, **1901**.

Atkinson, J. P., & Banzhaf, E. J., Proc. of the soc. for exper. biol. and med., Vol. 7, Nr. 5, **1910**.

Bang, Ivar, Hofmeisters Beiträge, Bd. 7, 149, **1906**.

Bauer, J., Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Orig., Bd. 5, 186, **1910**.

Bauer, R., & Hirsch, A., Wien. klin. Wochenschr., **1910**, Nr. 1, S. 6; Nr. 4, S. 138.

Belfanti, S., & Carbone, T., Arch. per le scienze mediche, Vol. 22, Nr. 2; Ref. Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 23, 906, **1898**.

Beljaeff, W., Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, 293, **1903**.

Biondi, Vierteljahresschr. f. ger. Med. u. öffentl. Sanitätsw., 3. Folge, Bd. 23, **1902**.

Bonhoff, Berl. klin. Wochenschr., **1897**, Nr. 5.

Bonhoff, H., & Tsuzuki, M., Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 4, 180, **1910**.

Brieger, L., Festschr. z. 60. Geburtstage von R. Koch. Jena, G. Fischer, **1903**, S. 445.

Brieger, L., & Boer, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 21, 259, **1896**.

Brieger, L., & Cohn, G., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 15, 439, **1893**.

Brieger, L., & Fränkel, C., Berl. klin. Wochenschr., **1890**, S. 246, 268.

Brieger, L., & Ehrlich, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 13, 336, **1893**.

Brieger, L., & Krause, M., Berl. klin. Wochenschr., **1907**, S. 946.

Brunner, J., & Pinkus, S. N., Biochem. Zeitschr., Bd. 5, 381, **1907**.

Buchner, H., Arch. f. Hyg., Bd. 17, 112.

Bujwid, O., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 22, 287, **1897**.

Burkhardt, A. E., Arch. f. exper. Path. u. Pharm., Bd. 16, 332, **1883**.

Busson, B., Müller, P. Th., & Rintelen, A., Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 3, 217, **1909**.

Butjagin, P. W., Hyg. Rundschau, **1902**, S. 1193.

van Calcar, R. P., Dialyse, Eiweißchemie und Immunität. Leipzig **1908**.

Castellani, A., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37, 381, **1901**.

Courmont, P. Thèse de Lyon, **1897**.

Czaplewski, Münch. med. Wochenschr., **1906**, S. 508.

[1] Deutsch, L., Ann. Pasteur, **1899**, p. 689.

[2] — Centralbl. f. Bakt., Bd. 28, Nr. 2, S. 45, **1900**.

Dieudonné, A., Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 13, 293, **1897**.

Döblin, A., Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 4, S. 229, **1910**.

Doerr, R., & Russ, V. K., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 722, **1909**.

Dorner, G., Experimentelle Beiträge zur Kenntnis der Hämolysine. Inaug.-Diss. Königsberg, **1905**.

Dreyer, G., & Walker, A., Brit. med. journ., **1909**, Vol. 1, 151.

v. Dungern, E., Die Antikörper. Jena **1903**, S. 81.

Dzierzgowski, Arch. des scienc. biol. (Inst. Impér. de méd. exp. à St.-Pétersb.), T. 7, 337.

[1] v. Eisler, M., Wien. klin. Wochenschr., **1906**, S. 494.

[2] — Zeitschr. f. exper. Path. u. Ther., Bd. 3, 296, **1906**.

[3] — Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, 159, **1909**.

Emmerich, R., & Mastbaum, O., Arch. f. Hyg., Bd. 12, 275.
Emmerich, R., & Fowitzky, A., Münch. med. Wochenschr., 1891, S. 554.
Emmerich & Tsuboi, Die Natur der Schutz- und Heilsubstanz des Blutes. Wiesbaden 1892.
Emmerich, Tsuboi, Steinmetz & Löw, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 12, S. 364, 1892.
v. Fodor & Rigler, Centralbl. f. Bakt., Bd. 23, 930.
Franceschelli, D., Arch. f. Hyg., Bd. 69, 207, 1909.
Fränkel, S., & Elfer, A., Biochem. Zeitschr., Bd. 28, 330, 1910.
Freund, E., & Joachim, J., Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 36, 407, 1902.
Freund, E., & Sternberg, C., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 31, 429, 1899.
Friedberger & Dorner, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 38, 544, 1905.
Friedberger & Moreschi, Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, 456, 1905.
[1]Friedemann, U., Taschenbuch der Immunitätslehre. Leipzig 1910.
[2]— Zeitschr. f. Hyg., Bd. 67, 279, 1910.
Fuhrmann, F., Hofmeisters Beitr., Bd. 3, 417.
Fuld, E., & Spiro, K., Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 31, 132, 1900/01.
Gibson, Journal of Biological chemistry, Vol. 1, 161, 1906.
Gibson & Collins, Journ. of Biol. chemistry, Vol. 3, 233, 1907.
Gibson & Banzhaf, E. J., Ebenda, Vol. 3, 253, 1907.
Glaessner, K., Zeitschr. f. exper. Path. u. Ther., Bd. 2, 154, 1906.
[1]Grosz, S., & Volk, R., Wien. klin. Wochenschr., 1908, Nr. 18.
[2]— — Ebenda, 1910, Nr. 3, S. 103 und 171.
Haendel & Hüne, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 29, 382, 1908.
Hahn, M., & Trommsdorff, R., Münch. med. Wochenschr., 1900, S. 413.
Hamburger & Moro, Wien. klin. Wochenschr., 1903, Nr. 15.
[1]Heim, L., Lehrbuch der Bakteriologie, 4. Aufl., Stuttgart 1911.
[2]— Münch. med. Wochenschr., 1909, S. 1.
[3]— Verfahren, in den Geweben immunisierter Tiere enthaltene Schutzstoffe aufzuschließen und möglichst konzentriert in wäßrige Lösung zu bringen. Patentiert im Deutschen Reiche vom 20. März. 1908 ab. Patentschrift Nr. 212 709, Klasse 30h, Gruppe 6.
Hetsch & Kutscher, Klin. Jahrb., Bd. 14, 158.
Hintze, A., Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Orig., Bd. 6, 113, 1910.
Hiss & Atkinson, Journ. of exper. med., Vol. 5, 47, 1901.
Hutyra & Wetzl, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere, Bd. 6, S. 1, 1909.
Jacobsthal, E., Arch. f. Hyg., Bd. 48, 207.
[1]Jacoby, M., Hofmeisters Beitr., Bd. 1, 51.
[2]— Arch. f. exper. Path. u. Pharmak., Bd. 46, S. 36.
[3]— Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 30, 135.
Jatta, M., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 33, 185, 1900.
Jez, V., Wien. med. Wochenschr., 1899, S. 345.
Jez, V., & Kluk-Kluczycki, F., Wien. klin. Wochenschr., 1901, S. 84.
Joachim, Pflügers Arch., Bd. 93, 558, 1903.
Joos, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, 203, 1902.
Ide & Lemaire, Arch. internat. d. pharmacodyn., T. 6, 477.
Kolle, W., Klin. Jahrbuch, Bd. 11, 392, 1903.
Kraus & v. Pirquet, Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, 1902.
Kraus & Russ, zitiert bei E. Pribram & V. K. Russ, Die Bakterienantihämotoxine. Handbuch von Kraus-Levaditi, Bd. 2, 230.
Kretz, K., Handbuch der Technik u. Methodik der Immunitätsforsch. von Kraus-Levaditi, Bd. 2, 31.
Krumbein & Schatiloff, P., Deutsche med. Wochenschr., 1908, Nr. 23, S. 1002.
Kuprianow, J., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 15, 458, 1894.
Landsteiner, K., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 27, 357, 1900.
Landsteiner, K., & Calvo, A., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 31, S. 781.
Landsteiner, K., & Jagič, N., Münch. med. Wochenschr., 1903, S. 764.
Landsteiner & Müller, Wien. klin. Wochenschr., 1908, S. 1076.
Langstein, L., & Mayer, M., Hofmeisters Beitr., Bd. 5, 69, 1904.
Latapie, Ann. de l'inst. Pasteur, 1900, p. 106.
Lazar, E., Wien. klin. Wochenschr., 1904, Nr. 40.
Ledingham, J. C. G., Journ. of hyg., Vol. 7, 65, 1907.

Leers, Die forensische Blutuntersuchung. Berlin 1910.
Levaditi, C., Ueber Phagocytose. Handbuch von Kraus-Levaditi, Bd. 2, 279.
Lieb, Cl. W., Journ. of med. Res., 1910, Nr. 118, S. 75.
v. Liebermann, L., & v. Fenyvessy, B., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 47, 274, 1908.
[1] Löffler, F., Deutsche med. Wochenschr., 1909, Nr. 48, S. 2097.
[2] — v. Leuthold-Festschrift, Bd. 1, S. 4.
Lüdke, H., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 40, 580, 1906.
Madsen, Th., Methoden der Immunisierung bei kleinen Versuchstieren. Handb. der Immunitätsforsch. von Kraus-Levaditi, Bd. 2, 33.
Mallannah, S., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 42, 567, 1906.
Marcus, E., Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 28, 559, 1899.
Martin, M., Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg., Bd. 10, 101, 1906.
Martin & Cherry, Proc. roy. soc., Vol. 63, 420, 1898.
[1] Meyer, K., Arch. f. Hyg., Bd. 67, 114, 1908.
[2] — Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 3, 114, 1909.
[3] — Biochem. Zeitschr., Bd. 32, 282, 1911.
Meyer, W., Deutsche med. Wochenschr., 1910, S. 78.
Michaelis, L., Die wichtigsten Methoden der Immunitätsforschung im Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden von E. Abderhalden, Bd. 3, 1, S. 1185.
Modica, O., Arch. Farmacol., Vol. 10, 268, 1910.
[1] Moll, L., Hofmeisters Beitr., Bd. 4, 563, 1904.
[2] — Ebenda, S. 578.
[3] — Zeitschr. f. exper. Path. u. Ther., Bd. 3, 325, 1906.
Morawitz, P., Blutplasma und Blutserum im Handbuch der Biochemie von C. Oppenheimer, Bd. 2, 2. Hälfte, S. 70. Jena 1909.
[1] Morgenroth, J., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 26, 1899.
[2] — Gesammelte Arbeiten zur Immunitätsforschung, herausg. von P. Ehrlich. Berlin 1904, S. 461.
[1] Müller, P. Th., Technik der serodiagnostischen Methoden, 3. Aufl. Jena 1910.
[2] — Hofmeisters Beitr., Bd. 6, 454, 1905.
Neufeld, F., Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 34, H. 3, S. 266, 1910.
Noguchi, H., Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, 353, 1903.
Oppenheimer, K., Hofmeisters Beitr., Bd. 4, 259, 1904.
[1] Otto, R., Die staatliche Prüfung der Heilsera. Jena 1906. Heft 2 der Arb. a. d. K. Inst. f. exp. Ther. Frankfurt a. M.
[2] — Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg., Bd. 10, 763, 1906.
Ottolenghi, D., Wien. klin. Wochenschr., 1906, S. 895.
[1] Pfeiffer, R., & Marx, Deutsche med. Wochenschr., 1898, Nr. 3, S. 47.
[2] — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 27, 272, 1898.
[3] — Deutsche med. Wochenschr., 1901, S. 867.
Pfeiffer, R., & Proskauer, B., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 19, 191, 1896.
[1] Pick, E. P., Darstellung der Antigene mit chemischen und physikalischen Mitteln. Handbuch von Kraus-Levaditi, Bd. 1, 331.
[2] — Hofmeisters Beiträge, Bd. 1, S. 351, 393, 445, 1902.
[3] — Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 34, 556.
Pohl, J., Hofmeisters Beiträge, Bd. 7, 381, 1906.
Popplewell-Bloxham, W., Proceedings Physiol. Soc. London, 1901, 16. März.
Porges, O., & Spiro, K., Hofmeisters Beitr., Bd. 3, 277, 1903.
Pribram, E., Darstellung der Antikörper mittels chemischer und physikalischer Methoden. Kraus-Levaditi, Handbuch der Technik u. Methodik der Immunitätsforschung, Bd. 2, 81, 1909.
Pribram, E., & Russ, V. K., Die Bakterienantihämotoxine. Kraus-Levaditi, Handbuch, Bd. 2, 223.
[1] Pröscher, Centralbl. f. Bakt., Bd. 31, 1902.
[2] — Münch. med. Wochenschr., 1902, S. 1176.
[3] — Patentanspruch (K 30) 13 757, Gewinnung eiweißfreier Antitoxine, 21. Juni 1902.
Quinan Clarence, Hofmeisters Beitr., Bd. 5, 95, 1904.
Rath, Centralbl. f. Bakt., Bd. 25, Nr. 15/16, S. 549, 1899.
Reye, W., Ueber Nachweis und Bestimmung des Fibrinogens. Inaug.-Diss. Straßburg, 1898.
Richardson, W., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 21, 445, 1897.
Rodhain, J., Hofmeisters Beiträge, Bd. 3, 451, 1903.

Rona, P., & Michaelis, L., Biochem. Zeitschr., Bd. 5, 365, **1907**. Ebenda, Bd. 7, 332, **1908**, Enteiweißung mit kolloidalem Eisenhydroxyd.
Rosenau, Bull. Nr. 21, Hyg. Lab. U. S. Publ. Health and Mar. Hosp. Serv., Washington.
Rostoski, Verhandl. der Physik.-Medizin. Gesellschaft zu Würzburg, N. F., Bd. 35, Nr. 2, S. 15, **1902**.
Roux & Vaillard, Ann. de l'inst. Pasteur, **1893**.
Sachs-Mücke, Klin. Jahrbuch, Bd. 20, 554, **1909**.
Salomonsen & Madsen, Ann. de l'inst. Pasteur, **1898**, 763.
Schmidt, P., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 69, 513, **1911**.
Schnürer, J., Die Serovaccination bei Schweinerotlauf. Handbuch von Kraus-Levaditi, Ergänzungsband 1, 298, **1911**.
Schuberg, A., & Mulzer, P., Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 33, 201, **1910**.
Schüller, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg., **1908**, H. 2 und 3.
Schütz & Pfeiler, Arch. f. w. u. pr. Tierheilk., Bd. 38, H. 3, **1912**.
Seng, W., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 31, 513, **1899**.
Shiga, K., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 60, S. 78, **1908**.
Sick, K., Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 80, **1904**.
Sisoff, P. W., Arch. Wet. Nauk., **1910**, Nr. 7, Referat in Zeitschr. f. Immun., 2. Teil, Ref., **1910**, 822.
Sobernheim, G., & Seligmann, E., Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Orig., Bd. 6, S. 411, **1910**.
Sormani, B. P., Arch. f. Dermat. u. Syphilis, **1909**.
Stäubli, C., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 33, 375, **1903**.
Stökel, S., Wien. klin. Wochenschr., **1910**, S. 1513.
Strubel, Münch. med. Wochenschr., **1902**, Nr. 15.
v. Szontagh, F., & Wellmann, O., Deutsche med. Wochenschr., **1898**, S. 421.
Tallquist, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 58, 165, **1908**.
Tizzoni & Cattani, Centralbl. f. Bakt., Bd. 9, 685, **1891**.
[2] — — Ebenda, Bd. 10, 33, **1891**.
Torrey, J. C., Journ. of med. Res., **1910**, Nr. 118, p. 95.
Uhlenhuth, P., & Weidanz, O., Prakt. Anleitung zur Ausführung des biolog. Eiweißdifferenzierungs-Verfahrens. Jena **1909**.
Uhlenhuth, Xylander, Hübener & Bohtz, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 27, 425, **1908**; Bd. 30, 217, **1909**.
Ussow, zitiert nach Beljaeff.
[1] Wassermann, A., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 18, 235, **1894**.
[2] — Berl. klin. Wochenschr., **1898**, Nr. 10, S. 209.
Weidanz, O., Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 29, 394, **1908**.
Weil, E., & Braun, H., Biochem. Zeitschr., Bd. 17, 337, **1909**.
Widal & Sicard, Ann. de l'inst. Pasteur, T. 11, 33, **1897**.
Winterberg, G., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 32, 375, **1899**.
Wolff, A., Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig. Bd. 33, 703, **1903**; Bd. 34, 557, **1903**.

III.

Antitoxische Sera.

Von

Geh. Med.-Rat Prof. Dr. **A. v. Wassermann**
und Dr. **Michael Wassermann**
in Berlin.

Geschichtliches.

Während die experimentell-wissenschaftliche Begründung der Lehre von den spezifischen Antitoxinen durch v. Behring nur wenig älter als ein Dezennium ist, scheint die Möglichkeit, sich gegen gewisse Gifte durch allmählich gesteigerte Zufuhr derselben zu immunisieren, schon seit alters bekannt gewesen zu sein. Ja, sogar die Tatsache, daß bei den so immunisierten Individuen im Blute resp. anderen Körpersäften spezifische Gegengifte auftreten, scheint im Altertum und bei gewissen Naturvölkern der Beobachtung nicht entgangen zu sein. Am bekanntesten ist in dieser Hinsicht die Berichterstattung von Plinius, daß Mithridates sich durch allmähliche Gewöhnung gegen gewisse Gifte schützte und, was uns hier besonders interessiert, das Blut von Enten, die er mit Giften gefüttert hatte, zu seinem Schutze verwendete. Hierher rührt auch der Ausdruck „Mithridatismus" für den Vorgang der absichtlichen Giftgewöhnung. — Auch von einer Kaste der Schlangenbeschwörer in Indien wird berichtet, daß sie sich von Jugend an von Schlangen, die in ihrem Giftigkeitsgrade allmählich immer stärker wurden, beißen ließen, und sich so gegen das stärkste Schlangengift immunisierten. — Auch diese Kaste scheint die Bildung und den Uebergang spezifischer Gegengifte in die Körpersäfte gekannt zu haben, da weiter erzählt wird, daß die immunisierten Angehörigen der Kaste ihren Speichel therapeutisch bei von Schlangen Gebissenen verwerten.

Wissenschaftlich ergründet wurde indessen die Lehre von den spezifischen Antitoxinen erst Ende des Jahres 1890 durch v. Behring, der gemeinsam mit Kitasato für den Tetanus (l. c.) und mit Wernicke für Diphtherie das Auftreten spezifisch antitoxischer Substanzen im Blutserum der künstlich gegen diese Toxine immunisierten Tiere nachwies. Ehrlich zeigte alsdann an dem Beispiele von Ricin, Abrin und Robin, daß sich nicht nur gegen Bakterientoxine, sondern auch gegen andere Gifte spezifische Antitoxine er-

zeugen lassen, und es war diesem Forscher bei Gelegenheit dieser Arbeiten möglich, die grundlegenden Gesetze der quantitativen Steigerung der Giftimmunität, sowie den Uebergang der Antitoxine in die Milch klarzulegen. Einige Jahre später gelang es unabhängig voneinander PHISALIX & BERTRAND sowie CALMETTE, ein spezifisches Antitoxin gegenüber einem tierischen Gifte, dem Schlangengifte, im Serum der gegen dieses Virus künstlich immunisierten Tiere nachzuweisen. Auch gegen einzelne der den Toxinen in biologischer Hinsicht so nahestehenden Fermente ist es gelungen, Antifermente darzustellen, welche sich in allem den Antitoxinen analog verhalten (HILDEBRAND, FERMI & PERNOSSI, v. DUNGERN, MORGENROTH, BRIOT u. a. m.).

Stellung des Antitoxins unter den anderen Antikörpern.

Bereits in dem vorhergehenden kurzen geschichtlichen Abschnitte wurde darauf hingewiesen, daß zuerst BEHRING in Gemeinschaft mit seinen Mitarbeitern die spezifische, giftneutralisierende Fähigkeit des Blutes von Tieren, die mit Tetanus- oder Diphtheriegift vorbehandelt waren, nachwies. BEHRING war auch derjenige, welcher für diese in dem Serum immuner Tiere vorhandenen Stoffe den Ausdruck Antitoxine einführte. Wir verstehen also heute unter einem antitoxischen Serum ein solches, welches imstande ist, ein bestimmtes lösliches Gift unschädlich zu machen, indem es mit dieser Substanz eine spezifische Verbindung eingeht. Es gehören entsprechend dieser Definition auch die Antihämolysine, Antiambozeptoren, Antikomplemente usf. (s. Kapitel Bakterizide Sera), sowie, wenn wir den Begriff „Gifte" auf alle aktiven gelösten Substanzen ausdehnen, auch die präzipitierenden Sera (s. Kap. Seitenkettentheorie und Präzipitine) streng genommen zu den antitoxischen Seris. Für die Gewinnung von Antitoxinen sind wir bisher ausschließlich auf den lebenden menschlichen oder tierischen Organismus angewiesen. Es ist bis jetzt niemals gelungen, synthetisch oder außerhalb des lebenden Organismus Substanzen zu erzeugen, welche sich den echten Antitoxinen, wie wir sie im Serum der immunisierten oder auch mancher normalen Tiere vorfinden, vollkommen analog verhalten*). Wenn auch Angaben von Autoren, wie z. B. EMMERICH & LOEW vorliegen, daß es ihnen geglückt sei, durch gegenseitiges Einwirkenlassen von gewissen tierischen Eiweißsubstanzen und Bakterienprodukten antitoxisch wirkende Substanzen künstlich außerhalb des Organismus zu erzielen, so hat sich bis jetzt stets gezeigt, daß diese sogenannten Antitoxine von denjenigen im Serum vorkommenden sich in wichtigsten Punkten unterscheiden. Das erste Erforderins, um Antitoxine zu erhalten, ist demnach ein lebendiger Organismus. — Die zweite Bedingung ist das Vorhandensein eines echten Toxins im bakteriologischen Sinne. Wir werden weiter unten sehen, daß die Reihe der uns bis jetzt bekannten Substanzen, welche diese Bedingungen erfüllt, d. h. daß man gegen sie immunisieren und ein Antitoxin erzeugen kann, eine relativ beschränkte ist, und daß gerade diese Eigenschaft uns eine strenge Scheidung in der großen Klasse der giftigen Substanzen erlaubt, nämlich in die, bakteriologisch gesprochen, echten Toxine und andere giftige Körper. Wir können also umgekehrt sagen, daß ein Haupt-

*) Ueber das „Antikenotoxin" nach WEICHARDT s. unten.

kriterium eines echten Toxins die Eigenschaft ist, daß man durch Immunisieren ein spezifisches Antitoxin gegen dasselbe erzeugen kann. Diese Eigenschaft ist viel konstanter und regelmäßiger als die übrigen Kriterien, die man als charakteristisch für den Begriff Toxin angegeben hat, wie z. B. die unbekannte chemische Struktur, die Labilität, die Wirksamkeit in äußerst geringen Dosen, die Tatsache, daß die meisten von ihnen erst nach einer gewissen Latenz-, einer Inkubationszeit wirken, oder endlich die Spezifizität ihrer Wirkung. Alles dies sind keine so durchgehenden und sicheren Eigenschaften eines echten Toxins wie eben die Möglichkeit der Antitoxinbildung. Von diesen besonderen Eigenschaften der Toxine in immunisatorischer Hinsicht werden wir noch später sprechen. Hier sei nur so viel bemerkt, daß die erste Bedingung, welche ein Toxin erfüllen muß, damit wir mit demselben ein Antitoxin erzielen können, die Löslichkeit ist. Wir sind also nur imstande, gegen richtige, lösliche Sekretionsprodukte gewisser pflanzlicher und tierischer Zellen Antitoxine zu erzielen. Demgemäß können wir nur dann gegenüber einem Infektionserreger ein antitoxisches Serum gewinnen, wenn dieser in seinen Kulturen ein echtes lösliches Toxin bereitet. Früher hat man in dieser Hinsicht angenommen, daß die Eigenschaft einer Bakterienart, beim Immunisieren Antitoxin zu bilden, wie es z. B. bei Diphtherie und Tetanus der Fall ist, oder die einer anderen Art, bakterizide Substanzen hervorzubringen, wie wir dies beispielsweise bei Typhus und Cholera sehen, eine konstante biologische Eigentümlichkeit des betreffenden Mikroorganismus sei. Indessen bereits Ransom sowie Metschnikoff, Roux & Salimbeni, ferner A. Wassermann konnten bei ihren Versuchen über Cholera und Pyocyaneus zeigen, daß das Auftreten von Antitoxin oder von bakteriziden Substanzen nicht so sehr abhängig ist von dem Mikroorganismus als solchem, als vielmehr von der Art der Bakterienstoffe, mit denen wir ein Tier vorbehandeln. Dies zeigen insbesondere auch die neuen Arbeiten, welche sich damit abgeben, ein antitoxisches Serum gegenüber Typhus, Cholera und Dysenterie zu gewinnen. Wir nennen hier insbesondere die Arbeiten von Besredka, Salimbeni, Kraus, Doerr, Huntemüller. Durch die Arbeiten dieser Autoren ist zweifellos festgestellt, daß es auch bei diesen Bakterienarten gelingt, ein Serum zu erzielen, das bis zu einem gewissen Grad ausgesprochene antitoxische Eigenschaften zeigt, indem nämlich ein solches Serum die sonst tödliche Dosis Gift zu neutralisieren vermag. Nichtsdestoweniger aber sind die meisten Autoren mit R. Pfeiffer darüber einig, daß diese Sera, die man als antiendotoxische Sera bezeichnet hat, sich in wesentlichen Punkten von den echten Antitoxinen unterscheiden. Vor allen Dingen fehlt bei ihnen die Möglichkeit, bei gesteigerten Multiplen von Antitoxin auch gesteigerte Multipla von Toxin zu neutralisieren. Wir selbst stehen auf Grund unserer Versuche auf dem Standpunkt, daß ein Hauptunterschied dieser Antiendotoxine gegenüber den echten Antitoxinen darin beruht, daß sie zu ihrer Wirkung stets Komplement bedürfen. Wenn man ein solches „antitoxisches“ Typhus- oder Choleraserum mit dem betreffenden Typhus- oder Choleratoxin mischt und Komplement zufügt, so ergibt sich in deutlicher Weise das Phänomen der Komplementbildung. Nach Arbeiten von A. Wassermann & C. Bruck ist dies aber bei den echten Toxinen, wenn man filtriertes Tetanustoxin mit Tetanusserum und -Komplement zu-

sammenbringt, nicht der Fall; Neufeld & Dold haben ebenfalls gezeigt, daß bei den echten Toxinen keine Komplementwirkung in Frage kommt. Vielmehr sieht es aus, daß die Wirkung der antiendotoxischen Sera darin besteht, daß sie mehr nach Art eines Ambozeptors mit Hilfe des Komplements die in dem Endotoxin vorhandenen Moleküle chemisch abbauen, so daß also in dieser Hinsicht ein grundlegender Unterschied zwischen dem einfachen bakteriziden und diesen antiendotoxischen Seris nicht besteht.

Dold & Ungermann fanden zwar, daß der Zusatz von frischem komplementhaltigen Serum zu Diphtherietoxin die Inkubationszeit verkürzt, was sie damit erklären, daß das Toxin zum Teil von den Lipoiden des Serums adsorbiert und in einen gewissen Lösungszustand gebracht wäre, aus welchem es dann leichter an die Zellen herantreten und seine Wirkung entfalten könne. Eine notwendige Mitwirkung des Komplementes, welche die Autoren übrigens auch nicht behaupten, ergibt sich aus diesen Untersuchungen aber nicht.

Zu den gleichen Anschauungen kommen R. Pfeiffer & Bessau, welche die verschiedensten antiendotoxischen Sera untersuchten. Nach diesen Autoren beruht die Wirkung nicht auf Antitoxinen, da eine vollständig entgiftende Wirkung fehlt; denn bei den infizierten und mit solchen Seris behandelten Tieren tritt als Zeichen der Erkrankung stets Temperatursturz ein. Auch erheben Pfeiffer & Bessau gegenüber der Anschauung, daß es sich hier um echte Antitoxine handle, unter anderem die Einwände, daß das Gesetz der Multipla nicht gelte, daß die durch einmalige Injektion beim Kaninchen gewonnenen einfachen bakteriziden Sera, wenn auch etwas schwächer, so doch fast ebensogut wirkten, daß auch normale Sera eine gewisse Wirkung zeigten, sowie daß endlich das Antiendotoxin bei getrennter Einverleibung wirkungslos bleibt. Nach Pfeiffer & Bessau beruht die giftfeindliche Wirkung aller dieser Sera auf einem Abbau des Giftes durch zwei Bestandteile, von denen einer dem antiendotoxischen Serum angehört (Ambozeptor), der andere aus dem Tierkörper stammt (Komplement). Es sind also dieselben Gründe, wie die oben auseinandergesetzten, welche Pfeiffer & Bessau veranlassen, die antiendotoxischen Sera von den echten antitoxischen Seris scharf abzutrennen.

Wir können also im allgemeinen sagen, daß die Entstehung der bei der Bakterizidie (s. Kapitel Bakterizide Sera und aktive Immunität) in Frage kommenden Substanzen i. e. Ambozeptoren an die Einverleibung der einen integrierenden Bestandteil des Bakterienleibes bildenden Körper gebunden ist, während wir das Auftreten von echten Antitoxinen nur beobachten, wenn Sekretionsprodukte von lebenden Zellen zur Immunisierung verwandt werden. Speziell für die Diphtherie konnte von A. Wassermann, Lubowski, Liepstein & Schwoner gezeigt werden, daß nach Vorbehandlung von Tieren mit Leibern der Diphtheriebacillen ein qualitativ anderes Serum erzielt wird, als nach der Einverleibung des Sekretionsproduktes der Diphtheriebacillen, des Diphtherietoxins. Wurden nämlich Tiere mit Extrakten von Diphtheriebacillen vorbehandelt, welche durch Extraktion der Bacillenleiber mit Aethylendiamin gewonnen waren, so erhielt A. Wassermann ein Serum, welches gar keine giftneutralisierende Wirkung zeigte, welches aber in den klaren Extrakten von Diphtheriebacillen einen starken Niederschlag erzeugte, also ein präzi-

pitierendes Diphtherieserum. Ebenso gelang es Schürmann & Sonntag, ein präzipitierendes Tetanusserum bei Kaninchen zu gewinnen. Demnach dürfen wir nicht sagen und es als endgültig festlegen, daß wir bei Diphtherie oder Tetanus stets nur ein antitoxisches und umgekehrt bei Cholera und Typhus stets nur ein bakterizides Serum erhalten werden, daß dies also eine biologische Eigentümlichkeit dieser Bakterien sei, sondern, sofern es möglich ist, in künstlichen Kulturen genügende Mengen eines spezifischen echten Cholera- oder Typhustoxins zu erhalten, würden wir ohne Zweifel dementsprechend auch sehr bald ein antitoxisches Typhus- und Choleraserum erhalten.

Physikalisch-chemische, nicht publizierte Untersuchungen A. von Wassermanns haben gezeigt, daß auch von diesem Gesichtspunkte aus ein Unterschied in der Wirkung der echten antitoxischen und der oben erwähnten antiendotoxischen Sera besteht, und zwar scheint der entscheidende Punkt in der Größe des Antigenmoleküls zu liegen. Bei solchem Antigen, das aus so kleinen Molekülen besteht, daß sie die Poren der Bakterienfilter leicht durchdringen, wie dies bei den echten Toxinen der Fall ist, genügt schon die Aenderung ihres physikalischen Zustandes, wie sie bei der einfachen Vereinigung von Antigen und Antikörper eintritt, um sie in ihrer funktionellen Wirkung zu beeinträchtigen. Daß eine derartige physikalische Veränderung tatsächlich bei der Vereinigung von Antigen und Antikörper stattfindet, ist durch physikalisch-chemische Arbeiten von Arrhenius & Madsen, Traube, Zangger, Weichardt, Ascoli, Abderhalden u. a. erwiesen. Bei großen Molekülen, die, wie die Moleküle der Endotoxine, Bakterienfilter nicht durchdringen, genügt die einfache Vereinigung des Antikörpers mit dem Antigen nicht; hier muß noch ein peptischer Abbau stattfinden, welcher durch das Komplement des Körperserums (oder durch Leukocyten) bewirkt wird. Auch Friedberger (Naturforscherverss. Karlsruhe 1911) neigt zu dieser mehr unistischen Auffassung, daß sowohl Antitoxine wie Antiendotoxine eine Veränderung des Antigenmoleküls nach der Richtung des Abbaus bezwecken, wobei nur der Mechanismus, ob unter Mitwirkung des Komplementes oder ohne dasselbe, verschieden ist. — Es sei fernerhin bemerkt, daß Bordet (Ref. Intern. Mediz. Kongr., Budapest 1909) für alle Antikörper auf unistischem Standpunkte steht und die Verschiedenheit ihrer Wirkungserscheinung lediglich auf die Verschiedenheit des Antigens zurückführt. —

Was die in neuerer Zeit viel bearbeiteten und mit dem Namen Anaphylatoxin belegten Substanzen, welche bei der Anaphylaxie eine Rolle spielen, betrifft, so sei hier nur kurz erwähnt, daß sie mit den echten Toxinen wohl kaum im Zusammenhang stehen. Es handelt sich hier um unspezifische Eiweißabbauprodukte, die, wie die Versuche von M. Wassermann & Keysser wahrscheinlich gemacht haben, in keinem Zusammenhange mit Bakteriengiften stehen. Neuere Untersuchungen von Dold & Ungermann sowie die Arbeiten Friedbergers und seiner Mitarbeiter haben gezeigt, daß solche Gifte sowohl aus Eiweiß wie aus saprophytischen oder pathogenen Bakterien schon durch Extraktion mit Serum, Kochsalzlösung, destilliertem Wasser entstehen können. Zu dieser Art von Giften gehören vielleicht auch jene giftigen Substanzen, auf welche man gelegentlich der intravenösen Injektion von Salvarsan aufmerksam wurde, und deren Wirkung Wechselmann dadurch vermeiden konnte, daß er nicht nur

sterilisiertes, sondern absolut keimfreies destilliertes Wasser benutzte. Es handelt sich, wie schon erwähnt, hier nicht um spezifische Bakteriengifte, sondern um Substanzen, die aus dem Abbau des Eiweißes entstehen und giftige Wirkung im Organismus zeigen. A. v. Wassermann schlug deshalb vor, sie unter dem Namen Toxopeptide zusammenzufassen, um so zum Ausdruck zu bringen, daß sie nichts mit den echten Toxinen zu tun haben. Eine Immunisierung gegen diese Toxopeptide ist unmöglich, Antitoxopeptide existieren nicht. Ueberdies unterscheiden sich diese giftigen Substanzen ohne weiteres dadurch von echten Toxinen, daß sie nur bei direkter Einführung in die Blutbahn giftig wirken, bei subkutaner Injektion aber fast ungiftig sind. Allerdings stehen andere Autoren (Friedberger, Aronsohn) auf dem Standpunkte, daß es sich auch bei diesem Anaphylatoxin um ein aus den betr. Bakterien abgespaltenes Gift handle. (Näheres s. Kap. Anaphylaxie.)

Gewinnung der Antitoxine.

(S. auch Kap. Techn. d. Immunisierung.)

Für die praktische Anwendung der Antitoxine genügt es nun aber nicht, einfach qualitativ das Vorhandensein von Antitoxin in einem Serum nachzuweisen, sondern zu diesem Zwecke kommt es darauf an, die Antitoxine in möglichst großen Mengen im Serum anzuhäufen, d. h. wie wir uns ausdrücken, das Tier, das wir immunisieren, in seiner Immunität hoch zu treiben. Das Verdienst, zuerst eine genaue zahlenmäßige Untersuchung über antitoxische Immunität und Immunitätssteigerung vorgenommen zu haben, gebührt Ehrlich. Ehrlich war es, der zuerst darauf hinwies, daß man die antitoxische Immunität und damit den Gehalt des Serums an Antitoxin durch immer steigende Einverleibung von Toxineinheiten steigern kann, und auf diesen von Ehrlich gewonnenen und von allen Autoren seither bestätigten Prinzipien beruht heute die allgemein übliche Gewinnung von Antitoxin in der Praxis. Es ist also die Achse der Antitoxingewinnung das Toxin. Um ein möglichst wirksames antitoxisches Serum zu erhalten, muß man ein möglichst wirksames starkes Toxin besitzen. Der allgemein dabei befolgte Grundsatz ist der, mit schwach wirkenden Dosen des Toxins bei den zu immunisierenden Tieren zu beginnen und alsdann durch allmähliche Steigerung zu höchsten Dosen des Vollgiftes anzusteigen. Die Schwierigkeiten, die sich diesem Vorgehen bieten, sind je nach der Tierart, die wir benutzen, und je nach dem Toxin, gegen das wir immunisieren wollen, sehr verschieden. Die Hauptschwierigkeit liegt in der Regel beim Beginn der Immunisierung, d. h. die ersten Dosen so abzuschwächen, daß sie einerseits den Organismus des Tieres resp. die die Antitoxine liefernden spezifischen Zellen nicht zu sehr angreifen, und andererseits trotzdem nicht reaktionslos durch den Organismus hindurchgehen. So gelingt es beispielsweise überhaupt nicht, Meerschweinchen mit unverändertem Tetanus- oder Diphtheriegift zu immunisieren und auf diese Weise bei Meerschweinchen die betreffenden Antitoxine zu erzeugen. Man ist vielmehr zu diesem Zwecke gezwungen, die ursprüngliche Giftigkeit des Toxins entweder nach dem Vorgange von C. Fränkel durch Erwärmung auf 60° oder durch Zusatz chemischer Mittel (s. unten) zu verändern, also modifizierte Gifte zu injizieren. Wie Knorr und v. Behring

& Kitashima nachgewiesen haben, ist es nicht möglich, auch wenn man mit einem noch so geringen Bruchteil der Dosis letalis minima von unverändertem Tetanus- oder Diphtheriegift die Vorbehandlung beginnt, diese Laboratoriumstiere zu immunisieren. Im Gegenteil konnte beispielsweise Knorr zeigen, daß durch tägliche Injektionen von $^1/_{10}$ der geringsten tödlichen Dosis Tetanustoxins die Meerschweinchen noch eher starben, als wenn sie die $^{10}/_{10}$, d. h. einfach tödliche Dosis für normale Meerschweinchen erhalten hatten. Und das gleiche konnten Behring & Kitashima für Diphtherietoxin beim Meerschweinchen beweisen, indem es ihnen gelang, die Tiere durch häufige Injektionen von sehr kleinen Dosen dieses Giftes schon mit $^1/_{400}$ der Dosis letalis minima zu töten. Ja, es starben sogar die Meerschweinchen, wenn sie mit $^1/_{1000000}$ der geringst tödlichen Dosis des unveränderten Giftes die Immunisierung begannen. Das unveränderte Diphtherie- und Tetanusgift erzielt also beim Meerschweinchen nicht nur allein keine Abstumpfung, sondern im Gegenteil eine Erhöhung der Empfänglichkeit. Dies wird, wie gesagt, verhindert, und es gelingt dann auch, diese Tiere zu immunisieren, wenn man bei den ersten Injektionen Gift anwendet, das nach dem Vorgange von Behring & Kitasato mit Jodtrichlorid oder nach dem Vorgange von Roux & Martin mit Lugolscher Lösung versetzt oder nach dem Vorgange von C. Fränkel (l. c.) durch Erwärmung abgeschwächt ist. v. Behring empfiehlt speziell bei Tetanus zwecks Immunisierung von Meerschweinchen sich eines Gemisches von Tetanustoxin und Antitoxin zu bedienen, das anfänglich einen ganz geringen Ueberschuß von Gift enthält, und dann allmählich die zugesetzte Antitoxinmenge immer mehr zu verringern.

Für die Antitoxingewinnung im Großen zwecks therapeutischer und immunisatorischer Anwendung an Menschen oder Tieren in der Praxis bedient man sich heute fast ausschließlich der Pferde*). Diese bieten in mehrfacher Hinsicht große Vorteile. Erstlich produzieren sie in der Regel reichlicher Antitoxin als andere Tiere, und zweitens ist die Abscheidung des Pferdeserums von dem Blutkuchen eine sehr gute, so daß Pferde größere Mengen reinen, hämoglobinfreien Serums zu liefern vermögen als andere Tiere. Daß etwa bestimmte Pferderassen besonders geeignet wären für die Antitoxingewinnung, läßt sich nicht mit Sicherheit behaupten. Man hat ebensowohl von sogenannten Kaltblütern wie Halbblütern und Vollblütern gut wirksame Antitoxine erhalten. Dagegen bestehen ganz entschieden die allergrößten individuellen Verschiedenheiten bei den einzelnen Pferden. Behandelt man eine Anzahl von Pferden in ganz gleicher Weise vor, so zeigt sich, daß ein Teil der Pferde ein sehr hochwertiges Serum gibt, andere ein weniger gutes, und eine Anzahl zeigt sich überhaupt unfähig, Antitoxine zu produzieren; sie werden wohl im Laufe der Injektion selbst immun gegen das Diphtheriegift, also aktiv immunisiert, indessen geben sie keinen genügenden Ueberschuß von Antitoxin in ihr Serum ab. Für die Zwecke der Antitoxingewinnung müssen die Pferde gesunde innere Organe haben und dürfen naturgemäß an keiner Infektion leiden, die auf den Menschen übertragbar wäre, also insbesondere an Rotzinfektion. Im Deutschen Reich ist deshalb gesetzlich festgelegt, daß alle Pferde,

*) Für die Herstellung von Antitoxinen in Laboratorien oder wissenschaftlichen Instituten eignen sich sehr gut auch Schafe, Ziegen und Esel.

die zur Gewinnung von Heilserum, das an Menschen Verwendung finden soll, dienen, unter ständiger, staatlicher veterinärpolizeilicher Aufsicht stehen. Leichte Gelenk- und Muskelaffektionen stören für die Gewinnung antitoxischer Sera besonders des Diphtherie- und Tetanusserum, nicht. Die Pferde sollen nicht zu jung und nicht zu alt sein, am besten ist ein Alter von ca. 5—6 Jahren. Ehe die Tiere in den Bestand eingestellt werden, ist es sehr zu empfehlen, sie eine Zeitlang in einem Quarantänestall isoliert zu halten, um nicht etwa durch neu hinzugekommene Pferde die schon hoch immunisierten zu infizieren. Denn jede andersartige Infektion setzt den Antitoxingehalt bei den Tieren stark herab. Während des Immunisierungsprozesses müssen die Tiere sehr gut gepflegt und gefüttert und täglich im Freien bewegt werden. Bei derartiger Behandlung, unter Entziehung von nicht zu großen Mengen Blutes, wie wir es weiter unten angeben werden, ist man imstande, die Tiere, die einmal immunisiert sind, über eine beträchtliche Reihe von Jahren zu erhalten und stets wirksames Antitoxin von ihnen zu erzielen. Zwecks Gewinnung von Antitoxin sind wir ausschließlich auf Injektionen angewiesen, und zwar entweder subkutan, intravenös oder intraperitoneal. Für Tetanus- und Diphtherieheilserum-Gewinnung wird man mit Vorteil stets subkutan injizieren. Daß alle Injektionen streng aseptisch vorgenommen werden müssen, versteht sich von selbst. Besondere Haltevorrichtungen sind für Pferde gewöhnlich nicht nötig, eventuell bedient man sich des in der tierärztlichen Praxis gebräuchlichen, an der Oberlippe angelegten Knebels, der sogenannten Bremse. Für die Injektion kleinerer Flüssigkeitsmengen bis zu 50 ccm genügen die gewöhnlichen Spritzen. Bei größeren Mengen bedient man sich mit Vorteil eines eigenen Druckapparates, bei dem man an einem Manometer den aufgewandten Druck ablesen kann. Ein sehr praktischer derartiger Apparat wird von der Firma F. & M. Lautenschläger-Berlin geführt. Werden die Injektionen intravenös gemacht, so wählt man stets die V. jugularis externa, die durch leichten Fingerdruck stark am Halse hervortritt. Gegen einzelne Gifte, wie z. B. Ricin und Abrin, läßt sich auch per os immunisieren und auf diese Art und Weise ein Antitoxin erzielen, wie dies Ehrlich (l. c.) nachwies. Indessen ist es nur eine geringe Anzahl von Toxinen, bei denen diese Immunisierungsmethode möglich ist; speziell bei Diphtherie und Tetanus versagt sie. Während es, wie bereits oben erwähnt, bei den kleinen, sehr empfänglichen Laboratoriumstieren, wie Meerschweinchen, nicht gelingt, von Anbeginn an, mit unverändertem Toxin zu immunisieren, ist dies bei großen Tieren möglich. Indessen auch hier muß man alsdann sehr vorsichtig beginnen und in sehr umsichtiger Weise mit den Dosen steigen. Ein bestimmtes Schema läßt sich dafür nicht angeben. Die Steigerung richtet sich ganz nach der Reaktion, welche die letzte Injektion bei dem Tiere hervorgerufen hat. Ist dieselbe sehr leicht und wurde dieselbe gut vertragen, so kann man bei der nächsten Injektion steigen. Jedenfalls aber muß stets die letzte Reaktion vollkommen abgelaufen sein, ehe man zu einer neuen Injektion übergeht. War die vorhergehende Reaktion sehr stark, so steigt man nicht, sondern wiederholt dieselbe Dosis nochmals. Als Beispiel eines solchen Immunisierungsprozesses gegen Diphtherie bei einer 665 kg schweren graviden Stute geben wir die von Salomonsen & Madsen angegebene Tabelle:

Tag	Toxindosis ccm	Tag	Toxindosis ccm	Bemerkung
1.	1	104.	800	
6.	1	119.	1000	
12.	3	135.	—	Aderlaß 150 I.-E.
15.	5	154.	—	Geburt eines Fohlens
23.	10	177.	—	
27.	20	184.	100	Aderlaß 45. I.-E.
36.	25	188.	200	
41.	50	195.	400	
45.	75	205.	700	
50.	100	213.	800	
57.	150	223.	600	
72.	250	232.	600	
81.	450	242.	1000	
92.	600	252.		Aderlaß 120 I.-E.

Die Stärke des Giftes muß naturgemäß, ehe dasselbe den Pferden injiziert wird, sofern es sich um Diphtheriegift handelt, an 250 g schweren Meerschweinchen, sofern es sich um Tetanustoxin handelt, an 15 g schweren Mäusen, genau austitriert werden. Von dem von Salomonsen & Madsen in dem vorstehenden Versuche benutzten Diphtheriegift tötet 0,1 ccm ein 500 g schweres Meerschweinchen innerhalb 48 Stunden, es war also ein mäßig starkes Diphtheriegift, da Diphtherietoxine leicht erhältlich sind, welche ca. 5mal stärker wirksam sind. In einem solchen Falle müßte demgemäß auch die Anfangsdose bei dem Pferde nur $^1/_5$ der von Salomonsen & Madsen gewählten betragen.

Infolge der verschiedenen individuellen Empfänglichkeit mancher Pferde gegenüber sehr kleinen Dosen unveränderten, starken Diphtherie- oder Tetanusgiftes empfiehlt es sich, besonders für Anfänger und Ungeübtere, auch bei Pferden die Immunisierung zuerst mit modifizierten, d. h. durch Wärme oder Chemikalien abgeschwächten Giften zu beginnen. Man erreicht so in gefahrloserer Weise eine Grundimmunität und treibt dann erst die Tiere durch allmählich gesteigerte Dosen von unverändertem Gift in der Immunität hoch. Diese Methode wird auch in der großen Serumbereitungsanstalt des Instituts Pasteur in Paris und seitens v. Behrings für die Gewinnung des Tetanusantitoxins im Großen befolgt. Im Institut Pasteur zu Paris beginnt man zwecks Gewinnung von Diphtherieantitoxin mit der Injektion von $^1/_2$ ccm Toxinlösung, die mit $^1/_2$ ccm Lugolscher Jodkalilösung versetzt ist. Diese Mischung wird, wie alle übrigen Injektionen, subkutan an der Schulter injiziert. Sobald die Reaktion abgelaufen ist, wird diese Dosis wiederholt, und zwar so lange, bis das Tier auf diese Menge nicht mehr reagiert. Erst dann wird zu 1 ccm unveränderter Toxinlösung übergegangen. Unter genauer Beobachtung der Reaktion steigt man dann auf 3, 5, 7, 10, 20, 30, 50, 75, 100 bis ca. 300 ccm starken Diphtherietoxins. Alsdann wird ein Aderlaß gemacht und das Serum auf seine Stärke geprüft. Um ein ca. 200—250 Antitoxineinheiten im Kubikzentimeter enthaltendes Serum zu erlangen, braucht es bei vorsichtiger Behandlung 3—4 Monate. Die Gewinnung des Tetanustoxins erfolgt ungefähr in analoger Weise. Auch die Abschwächung der ersten Dosen dieses Toxins erfolgt nach Roux & Martin mittelst Lugolscher Lösung. Man beginnt ungefähr mit 0,1 ccm Toxin, dem 0,1—0,2 ccm Lugolscher Lösung zugesetzt sind.

Erst wenn nach 4—5 Injektionen dieses modifizierte Gift ganz reaktionslos vertragen wird, wird zu 0,1 ccm reinen Toxins übergegangen. Im allgemeinen sind die Reaktionen nach Injektionen von Tetanustoxin heftiger und dauern länger als bei Diphtherie, so daß auch der ganze Immunisierungsprozeß, ehe man brauchbares Serum enthält, bei Tetanus sich ungefähr doppelt so lange hinzieht. v. Behring (zit. nach Deutsch, „Impfstoffe, Sera", Leipzig, G. Thieme, 1903) verfährt bei der Immunisierung von Pferden gegen Tetanus in folgender Weise: Er benutzt dazu ein Standardtoxin (Tetanus-Bouillonkultur), das durch Zusatz von $^1/_2$-proz. Karbolsäure konserviert wird. Das Standardtoxin soll so stark sein, daß es Mäuse in der Menge von 2—4 Dezimilligramm in längstens 3 Tagen, Kaninchen in der Menge von 0,75 ccm in der gleichen Zeit tötet. Dieses Standardgift teilt Behring in 4 Portionen. Die erste Portion enthält 20 ccm Toxin ohne jede Zumischung, die zweite Portion enthält 40 ccm, die bis zu einem Gehalt von 0,125 Proz. mit Jodtrichlorid versetzt werden, die dritte Portion 60 ccm bis zu einem Gehalt von 0,175 Proz. Jodtrichlorid, die vierte Portion 80 ccm bis zu einem Gehalt von 0,25 Proz. Jodtrichlorid versetzt. Die erste Injektion bei den Pferden besteht in 10 ccm der Mischung IV subkutan. Nach völligem Ablauf der Reaktion erhalten die Tiere 20 ccm, dann abermals 20 ccm und alsdann 30 ccm subkutan. Es erfolgt dann die Injektion von zweimal je 30 ccm der Mischung III, alsdann zweimalige Injektion von je 20 ccm Mischung II, worauf zum unveränderten Toxin Nr. I übergegangen wird. Von diesem ist die Anfangsdosis 0,2—0,5 ccm, worauf entsprechend den Reaktionen allmählich aufgestiegen wird.

In neuerer Zeit hat man zur Abschwächung des Giftes für die ersten Injektionen bei Pferden statt der Einwirkung von Wärme oder von Chemikalien die schon oben erwähnten Toxin-Antitoxingemische sehr empfohlen. Zuerst von Babes, Pawlowsky und Maksoutow, Nikanoroff und Kretz empfohlen, wurde die Methode dann von W. Park systematisch angewandt. Durch die guten Erfolge, die Park erzielte, wurde Louis Martin veranlaßt, sie ebenfalls im Institut Pasteur zu Paris zur Gewinnung des Diphtherieantitoxins im großen zu verwenden. Park geht nach folgendem Protokoll vor, aus dem ersichtlich ist, daß zuerst abfallende Mengen Antitoxin mit der gleichen Menge Toxin gemischt injiziert werden, dann nach Weglassung des Antitoxins von der eben verwandten Toxinmenge aus allmählich angestiegen wird.

Die Pferde werden jeden Donnerstag und Montag behandelt.

1.	Injektion	25	ccm	Antitoxin + 25 ccm Toxin
2.	„	10	„	„ + 25 „ „
3.	„	25	„	Toxin allein
4.	„	40	„	„ „
5.	„	60	„	„ „
6.	„	80	„	„ „
7.	„	100	„	„ „
8.	„	150	„	„ „
9.	„	200	„	„ „
10.	„	250	„	„ „
11.	„	300	„	„ „
12.	„	350	„	„ „
13.	„	400	„	„ „
14.	„	450	„	„ „
15.	„	500	„	„ „

Einen neuen Weg zur raschen Gewinnung hochwertigen Diphtherieantitoxins schlägt Ph. Blumenthal in Moskau ein. Da Blumenthal fand, daß bei Pferden die Resorption großer Toxindosen vom Unterhautzellgewebe aus ziemlich langsam vor sich geht und bei intravenöser Injektion die Erhöhung der Dosen über ein gewisses Maß hinaus deswegen zwecklos ist, weil die Tiere zwar immun werden, aber trotzdem kein besseres Antitoxin liefern, suchte er nach einer anderen Applikationsart des Toxins. Blumenthal injiziert deshalb den Pferden das Toxin direkt in die Lunge, indem von außen durch Haut, Interkostalmuskulatur und Pleura eingestochen wird. Die Menge des injizierten Toxins richtet sich nach der Giftigkeit, so daß von einem stark wirksamen Gift geringere Mengen nötig sind, wie von einem schwächeren.

Blumenthal fängt mit sehr kleinen Toxinmengen an, die von Injektion zu Injektion ungefähr um das Doppelte erhöht werden; die folgende Tabelle, aus der gleichzeitig das Verhalten von Temperatur und Körpergewicht ersichtlich ist, veranschaulicht im Detail das Vorgehen bei der intrapulmonalen Infektionsmethode zwecks Gewinnung des Diphtherieserums.

Injektions-No.	Datum	Toxinmenge	Temperatur	Gewicht in kg
1	18. IV.	0,01	—	344
2	20. IV.	0,02	—	—
3	24. IV.	0,04	—	336
4	26. IV.	0,08	—	—
5	28. IV.	0,2	38,5	—
6	1. V.	0,4	—	—
7	4. V.	0,8	—	—
8	7. V.	2,0	—	—
9	10. V.	4,0	38,5	—
10	14. V.	8,0	—	—
11	17. V.	15,0	38,9	—
12	21. V.	30,0	39,2	340
13	24. V.	60,0	38,8	336
14	28. V.	125,0	39,4	—
15	1. VI.	250,0	39,2	—
16	6. VI.	400,0	39,4	344
17	12. VI.	600,0	39,7	340
18	20. VI.	1000,0	40,0	344

Die Pferde vertragen solche Mengen ohne Beschwerden. Allerdings fand Lurje, daß bei den so behandelten Tieren Nekrosen in den Lungen auftreten.

Ein Nachteil der Blumenthalschen Methode besteht darin, daß die Pferde die Behandlung nur einmal vertragen; Blumenthal entblutet die Pferde am Schlusse der Behandlung vollständig. Erwähnt sei, daß nach Gebb auch vom Conjunctivalsack aus die Gewinnung von Tetanus- und Diphtherieantitoxin gelingt.

Die Reaktion, die bei den Pferden nach der Injektion auftritt, ist bei allen Toxinen stets eine lokale und allgemeine. — Die lokale Reaktion äußert sich bei subkutanen Injektionen in mehr oder weniger ausgebreiteten schmerzhaften Infiltraten. Bei der Anwendung größerer Volumina kann es bisweilen zu sterilen Abszessen kommen. Abszesse, die bakterienhaltig sind, sind stets die Folge von nicht aseptischer Injektion. Die allgemeine Reaktion äußert sich

erstlich in einer Erhöhung der Temperatur. Die normale Temperatur des Pferdes, im Rectum gemessen, liegt zwischen 37—38°, die Reaktionstemperatur kann durchschnittlich bis 40° gehen. Eine Erhöhung der Temperatur auf 41° ist gewöhnlich das Zeichen, daß die Dosis etwas zu hoch gewählt war. Die allgemeine Reaktion äußert sich fernerhin in einer Verminderung der Freßlust und in der Abnahme des Gewichtes. Sowohl lokale wie allgemeine Reaktion müssen vollkommen abgelaufen, also das Ursprungsgewicht ziemlich wieder hergestellt sein, ehe man zu einer neuen Dosis übergeht.

Was den Zeitpunkt, d. h. den geeignetsten Tag der Entnahme des Serums nach der letzten Injektion angeht, so war für die Kenntnis dieses Punktes eine Arbeit von Brieger & Ehrlich grundlegend. In dieser Arbeit wies Ehrlich in Gemeinschaft mit Brieger durch tägliche Bestimmung des Antitoxingehaltes in der Milch einer gegen Tetanus immunisierten Ziege nach, daß der Immunisierungsvorgang resp. die Antitoxinproduktion bei dem immunisierten Tier wellenförmig verläuft. Die genannten Autoren konnten zeigen, daß, wenn sie ihrer Ziege, deren Milch einen antitoxischen Wirkungswert von 4000 hatte, eine Injektion von Gift machten, der antitoxische Wert am nächsten Tage sofort stark abnahm. Vom 5. Tage ab nach der Injektion stieg nun der Antitoxingehalt kompensatorisch stark an und erreichte am 17. Tage ein Maximum von 9000, d. h. mehr als das Doppelte wie vor der Injektion. Alsdann fiel der Wert gleichmäßig herab, um am 29. Tage nach der Injektion einen Endwert von 4000 zu erreichen, der dann durch Wochen hindurch unverändert blieb.

Es ist also das Verhalten so, daß infolge der Injektion in den nächsten Tagen zuerst der Antitoxingehalt im Blute abfällt, indem ein Teil des im Blute enthaltenen Antitoxins von dem injizierten Toxin gebunden wird, daß alsdann daran anschließend infolge der Reaktion eine kompensatorische Hyperproduktion von Antitoxin erfolgt, die für Tetanus ca. am 17.—18. Tage ihren höchsten Grad erreicht. Demgemäß ist es für die Gewinnung möglichst hohen Tetanus-Antitoxins am besten, ca. 3 Wochen nach der letzten Injektion den Aderlaß zu machen. Für Diphtherie konnten Salomonsen & Madsen genau die gleichen biologischen Verhältnisse nachweisen. Auch hier ist dieser wellenförmige Verlauf des Toxingehaltes vorhanden. Nur wird bei Diphtherie nach den Resultaten dieser Untersucher der höchste Gipfel der Kurve am 10. Tage nach der letzten Injektion erreicht. Aus diesem Grunde wird bei Diphtherie-Immunisierung am 10. Tage nach der Injektion am besten der Aderlaß gemacht. Da weiter, wie wir ersahen, das Stadium dieser Hyperproduktion von Antitoxin nicht lange anhält, sondern sehr rasch wieder abfällt, um sich dann auf einen gewissen mittleren Wert für längere Zeit einzustellen, so ist es nötig, die Tiere von Zeit zu Zeit immer wieder zu injizieren, um den Antitoxingehalt im Serum möglichst hoch zu halten. — Im allgemeinen genügt es, Pferden, die einmal hoch in der Immunität waren, alle Monate wiederum mehrere Injektionen zu verabreichen, um sie so dauernd auf der gewollten Höhe zu erhalten.

Was die Entnahme des Blutes angeht, so sticht man an der gehörig desinfizierten V. jugularis einen Troicart ein. Nach Herausziehen des Stiletts verbindet man den Troicart mit einem sterilen

Schlauch und fängt nun das Blut in einem sterilen, mehrere Liter fassenden Glase auf. Die Gläser mit dem Blute werden an einem kühlen Orte bis zur Abscheidung des Serums aufbewahrt. Zur besseren Auspressung des Blutkuchens und zur Vermeidung jeglichen Luftzutritts während der Blutgewinnung und Serumabscheidung sind verschiedene Apparate und Vorrichtungen angegeben worden, die in jedem Kataloge der Spezialfirmen für bakteriologische Apparate zu finden sind. Die Hauptsache ist, daß das Gefäß, in welchem das Blut aufgefangen wird, vorher mit Sand, Wasser und Alkohol peinlichst gesäubert wurde. Man kann bei jedem Aderlaß einem Pferde gut ungefähr 6 l Blutes entziehen und vermag dies 4—5 Tage hintereinander zu wiederholen. Alsdann läßt man das Tier mehrere Wochen in Ruhe und treibt hierauf die Immunität wieder in der angegebenen Weise in die Höhe. Durchschnittlich liefert auf diese schonende Weise ein Pferd ungefähr 120 l Serum im Jahr. Roux läßt die Pferde am Morgen des Aderlasses nüchtern, da er glaubt, daß nach jeder Fütterung im Blute Darmbakterien auftreten und diese mit den Nebenwirkungen, die man beim Serum beobachtet hat, in irgendeinem Zusammenhang stehen können. Zur Konservierung eignet sich am besten $^1/_2$-proz. Karbol oder 0,3-proz. Trikresol. Im Institut Pasteur zu Paris wird das Serum überhaupt nicht mit Konservierungsmitteln versetzt, sondern nur auf 60° erwärmt. Filtration des Serums durch Bakterienfilter ist nicht zu empfehlen, da alle engporigen Filter eine gewisse Menge von Antitoxin zurückhalten (Cobbett).

Da die Antitoxine frei im Blute kreisen, so treten sie mit den Eiweißstoffen des Blutes auch in andere Körpersäfte über.

Vaillard & Roux konnten nachweisen, daß die zellfreie Oedemflüssigkeit bei tetanusimmunisierten Kaninchen ebenso stark antitoxisch wirkt wie das Blutserum.

Auch der Humor aqueus enthält Antitoxin, indessen in etwas geringerem Grade als das Serum; der Speichel zeigt eine schwache antitoxische Kraft, eine etwas stärkere der Urin. Der Eiter enthält stets beträchtlich weniger Antitoxin als das Serum. Nach Roux-Vaillard ist der Eiter des tetanusimmunen Kaninchen 6—8mal, nach Salomonsen & Madsen zeigte sich der Eiter bei einem gegen Diphtherie immunisierten Pferd ungefähr 2mal weniger antitoxisch als das Blutserum. In der Lumbalflüssigkeit konnten V. Morax & G. Loiseau sowohl Diphtherie- als Tetanusantitoxin nachweisen, dagegen fehlen nach Frouin die Antitoxine in der Galle und im Pankreassaft.

Eine Sonderstellung bezüglich des Antitoxingehaltes nimmt unter den Körpersäften neben dem Blutserum die Milch ein. Ehrlich zeigte, daß die Milch immunisierter Tiere reich an Antitoxin ist. Nach Versuchen von Ehrlich & Wassermann, die das Verhältnis von Antitoxingehalt des Serums zu dem der Milch quantitativ bestimmt haben, enthält die Milch den 15.—30. Teil von Antitoxin, den das Blutserum desselben Tieres enthält. Dieses Verhältnis schwankt individuell.

Bei dem Uebergang der Antitoxine in die Milch scheint es sich nicht nur um einfache Diffusion aus dem Blutserum zu handeln, vielmehr muß eine aktivere Tätigkeit der Milchdrüse bei diesem Vorgange angenommen werden. Die Milchantitoxine zeigen

nämlich ein anderes biologisches Verhalten wie die Serumantitoxine. Much, sowie Römer fanden, daß der Säugling oder das säugende Tier aus der Milch immunisierter Mütter mehr Antitoxine resorbieren wie aus normaler Milch, der die gleiche Menge Serumantitoxin zugesetzt war. Die Antitoxine gehen also im ersten Fall in den Komplex des Milcheiweißmoleküls hinein. Außerdem fand Salge, sowie auch Bertarelli, daß der Darm des menschlichen Säuglings für Milchantitoxine besser durchgängig ist wie für Serumantitoxine. (Näheres im Kapitel Vererbung der Immunität.)

Auf dieser leichten Resorbierbarkeit der Antitoxine beruht auch die Uebertragung der mütterlichen Immunität auf das säugende Junge, die von Ehrlich zuerst gefunden und namentlich von Pädiatern genauer studiert wurde. Die Literatur über diesen Punkt findet man bei Kehrer und Pfaudler zusammengestellt. Auch P. H. Römer behandelt diesen Gegenstand ausführlich.

Um im Serum eines Tieres Antitoxine zu erzielen, muß dasselbe nicht unbedingt zu einer Tierspecies gehören, die sehr empfänglich für das betreffende Gift ist. So gelingt es beispielsweise, wie Vaillard zeigen konnte, bei Hühnern, die von Natur aus sehr wenig empfänglich für Tetanus sind, trotzdem ein hochwertiges Tetanusantitoxin zu erhalten. Ebenso konnte Metschnikoff bei dem gegen Tetanus von Natur aus immunen Alligator in der Wärme, und Hausmann bei Fledermäusen Antitoxinbildung nachweisen.

Es läßt sich also nicht als Gesetz aufstellen, daß, je empfänglicher eine Tierart für ein Toxin ist, desto geeigneter sie auch für die Gewinnung hochwertigen Antitoxins sei. So zeigt sich beispielsweise auch das Kaninchen, das weniger empfänglich für Tetanus als das Meerschweinchen ist, trotzdem geeigneter für die Antitoxingewinnung als das letztere Tier.

Für die Antitoxingewinnung gegen Schlangengift, speziell Cobragift, das von Calmette im Institut Pasteur zu Lille zwecks Verwendung in der Praxis an Pferden gewonnen wird (siehe das betreffende Kapitel dieses Handbuches), bedient sich dieser Forscher bei den ersten Injektionen ebenfalls des modifizierten Giftes. Er erreicht die Abschwächung dadurch, daß er das Gift mit der gleichen Menge einer 1-proz. Goldchlorid- oder Chlorkalklösung versetzt. Allmählich steigert er die Giftdosen unter gleichzeitiger Verminderung des Chlorkalkzusatzes. Die Injektionen erfolgen alle 3—4 Tage unter genauer Beobachtung der Gewichtskurve. Sobald das Tier anfängt, abzumagern, werden die Injektionen ausgesetzt, um sie erst wieder dann aufzunehmen, wenn das Gewicht normal geworden ist. Nach vier Injektionen läßt Calmette den Chlorkalkzusatz weg und injiziert die Hälfte der eben tödlichen Dosis des Giftes, nach 3 oder 4 Tagen den Dreiviertelteil derselben tödlichen Dosis, nach weiteren 3 oder 4 Tagen eine ganze tödliche Dosis. Von da ab kann man dann weniger vorsichtig mit den Giftdosen ansteigen, um volle Immunität und hochwertiges Serum zu erhalten. Die Behandlung nimmt bis zum Volleffekt 16 Monate in Anspruch.

Für die Gewinnung des Botulismusantitoxins (Näheres s. den Abschnitt „Botulismusimmunität“ dieses Handbuches), wie sie am Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin ausgeführt wird, hat sich als das geeignetste Verfahren herausgestellt, bei der Behandlung der Pferde mit minimalen Dosen zu beginnen und allmählich, unter Vermeidung

größerer Sprünge, zu hohen Dosen anzusteigen. Von einem Gift, 24—72 Stunden tötet, werden einem Pferd $^1/_{200}$ ccm, also die 20-fach von dem $^1/_{40}$ mg ein Meerschweinchen von 250 g Gewicht binnen tödliche Meerschweinchendosis injiziert. Nach 4—5 Tagen folgt die doppelte Dosis, also $^1/_{100}$ ccm, nach weiteren 5 Tagen $^1/_{50}$ usw.

Forssman immunisierte Kaninchen durch Injektionen eines auf 60° erwärmten und dadurch abgeschwächten Toxins, und ließ später Injektionen unveränderten Toxins folgen.

Die Immunisierung muß, da zur praktischen Anwendung ein sehr hochwertiges Antitoxin erforderlich ist, lange fortgesetzt werden.

Bei der Gewinnung des Tetanus-Antitoxins ist besondere Aufmerksamkeit der Beschaffenheit des Toxins zuzuwenden. v. Behring bestimmt neuerdings vor Beginn der Immunisierung diejenige Giftmenge, die einen Tetanus-Toxin-Antitoxingemisch, welches so eingestellt ist, daß eine Maus zwar noch krank wird, aber nicht mehr stirbt, zugesetzt werden muß, um den Tod binnen 4 Tagen herbeizuführen. Je größer die Giftmenge ist, desto besser eignet sich das betreffende Toxin zur Immunisierung. Um aber diese Toxindose zu erhöhen, wählt man mit Jodtrichlorid abgeschwächte Toxine, deren krankmachende Dosis weit unter der letalen liegt. Das weitere Vorgehen bis zur Erzielung einer Grundimmunität ist oben schon beschrieben.

Ob man es bei dem Dysenterieantitoxin in der Tat mit einem echten antitoxischen Serum zu tun hat, ist von mancher Seite, so von Bessau, bestritten worden. Indessen vertreten R. Kraus & Doerr sowie Kolle den Standpunkt, daß auch das Dysenterieantitoxin ein echtes antitoxisches Serum ist.

Was seine Darstellung betrifft, so spielt die Beschaffenheit des Antigens hier nicht die Rolle, wie bei den übrigen Antitoxinen. Während Todd die Tiere ausschließlich mit Toxin immunisierte, behandelten Kraus & Doerr ihre Tiere teils mit lebenden Kulturen, teils mit Toxin. Letztere Autoren erzielten durch eine am Tage vor Beginn der Immunisierung verabreichte Dosis von Dysenterieantitoxin eine passive Grundimmunität, so daß sie nachher mit größeren Toxinmengen beginnen und ansteigen konnten.

Was die Darstellung des Pyocyaneus- und Rauschbrandantitoxins, welche zu wichtigen theoretischen Erkenntnissen führten, betrifft, so sei auf die betreffenden Spezialabhandlungen in diesem Handbuche verwiesen.

Auch die Darstellung der antiendotoxischen Sera ist bei den betreffenden Kapiteln zu finden.

Hier sei nur noch in Kürze auf die Darstellung der durch pflanzliche Gifte, Phytotoxine, erzeugten Antitoxine eingegangen.

Das Prinzip der Antitoxingewinnung ist auch hier wieder das altbekannte Verfahren des Ansteigens von kleinen zu größeren Dosen. Bemerkenswert ist hier, daß Ehrlich bei der Herstellung des Antiricins und Antiabrins zur Etablierung einer Grundimmunität zuerst kleine Dosen per os verfütterte und anschließend daran zu subkutanen Injektionen überging. Es gelang Ehrlich so bekanntlich ein Antiricin, Antiabrin, Anticrotin und Antirobin mit typischen antitoxischen Eigenschaften bei weißen Mäusen und Kaninchen zu gewinnen.

Kobert und namentlich Ford, sowie Ford & Abel wiesen in dem Knollenblätterschwamm (Amanita phalloides) ein Toxin nach, das

Kobert Phallin benannte und als Toxalbumin auffaßt. Nach Ford & Abel scheint es aber, als ob dieser giftigen Substanz, deren Wirkung der des Phosphors ähnlich ist, nicht der Charakter als Eiweißsubstanz, sondern der eines Glykosids zukommt. Ford konnte ein antitoxisches Serum gegen dieses Toxin, also ein Antiphallin, herstellen.

Ob es gelingt, gegen die große Klasse der Hämotoxine (siehe das betreffende Kapitel), worunter hämolytisch wirkende Antigene zu verstehen sind, in allen Fällen Antitoxine darzustellen, ist noch nicht entschieden.

Gelungen ist die Antitoxindarstellung bis jetzt bei dem Tetanolysin (Ehrlich), Colilysin (Kayser), Staphylolysin (Neisser & Wechsberg), Vibriolysin (R. Kraus); bei anderen Bakterienhämolysinen, wie z. B. dem Pyocyaneolysin, aber noch nicht.

Aehnliche giftige Stoffe finden sich bei Tieren: Spinnen (Arachnolysine), Insekten (Bienengift), Amphibien (Krötengift, Phrynolysin), Fischen usw. Auch gegen diese giftigen Antigene, das Arachnolysin, Phrynolysin, das Fischgift des Trachinus draco sowie der Aale gelang es, Antitoxine zu gewinnen. (Siehe Kapitel Tierische Gifte.)

Schließlich sind noch zwei Antitoxine zu erwähnen, das Heufieber- und das Ermüdungsantitoxin.

Zur Gewinnung des Heufieber-Antitoxins, des Pollantins, geht man nach Dunbar folgendermaßen vor: Nur Pferde, die auf die erste Injektion von 0,5 g Pollenextrakt Reaktion zeigen, werden mit steigenden Dosen desselben weiter behandelt. Pferde, die nicht reagieren, sind zur Serumgewinnung unbrauchbar. Nach Abklingen der jedesmaligen Reaktion werden steigende Mengen des frisch bereiteten Pollenextraktes injiziert. Die Behandlung dauert mehrere Monate. Das Serum wird trocken oder flüssig konserviert. Die Bestimmung des Schutzwertes wird so vorgenommen, daß eine konstante Menge Pollenextrakt mit fallenden Mengen des Serums versetzt und beobachtet wird, bei welcher kleinsten Serummenge bei einem Heufieberpatienten eben keine Reaktion mehr auftritt.

Auf dem bekannten Weg, durch Immunisierung mit steigenden Dosen, konnte Weichardt mittels Injektionen seines Kenotoxins bei Kaninchen ein Antitoxin, Antikenotoxin genannt, herstellen, dessen Injektion bei Tieren die Wirkung des Kenotoxins aufheben konnte.

Das Antikenotoxin entsteht aber auch auf andere, ganz einzig dastehende Art. Wird nämlich das Kenotoxin bis zum Sieden erhitzt und dabei umgeschüttelt, so verliert es nicht nur seine Giftigkeit, sondern es entsteht das Antikenotoxin mit den typischen Eigenschaften eines spezifischen Antitoxins.

Es läge also hier der Fall vor, daß ein Antitoxin außerhalb des Tierkörpers künstlich hergestellt würde.

Auch die Antifermente (s. Kapitel Leukocytenfermente und Antifermente) verhalten sich ganz wie Antitoxine.

Entstehung der Antitoxine im Organismus.

Eine der auffallendsten Erscheinungen der Antitoxine ist die bereits von v. Behring festgestellte Tatsache, daß das durch ein bestimmtes Toxin erzeugte Antitoxin nur gerade gegen dieses eine

Gift und gegen kein anderes wirksam ist (vgl. unten). Diese spezifische Wirkung des Antitoxins ist so in die Augen springend, daß man zuerst annahm, in dem Antitoxin sei stets noch ein Teil des Toxins enthalten, so daß das letztere also die eigentliche Matrix des Antitoxins bilde. Buchner war der erste, der diese Ansicht vertrat, wonach die Antitoxine ungiftige Modifikationsprodukte der den Tieren injizierten Toxine darstellen. In diesem Fall würde es sich dann bei der Wirkung von Antitoxinen auf Toxine nicht um eine ähnliche Wirkung handeln wie zwischen Säure und Base, sondern um eine Anziehung von Gleichartigem zu Gleichartigem, wie dies etwa in der Polymerisations-, in der Kristallisationsanziehung oder im Bau der Stärkekörner verwirklicht ist (Ehrlich). Mit Recht betonte indessen demgegenüber Ehrlich, daß schon vom rein chemischen Standpunkte aus diese Annahme nicht zutreffen kann, weil die als Analoga angeführten Prozesse in konzentrierten Lösungen vor sich gehen, während die Neutralisation von Toxin und Antitoxin auch in außerordentlich verdünnten Lösungen erfolgt. Indessen, abgesehen von diesen, chemischen Analogieschlüssen entnommenen Einwendungen, sind es besonders experimentelle Resultate in vivo, welche die Annahme der Entstehung der Antitoxine aus einer Umbildung der Toxine unhaltbar machen. Dagegen spricht in erster Linie die große Disproportionalität zwischen der Menge des eingeführten Toxins und den daraufhin produzierten Antitoxinmengen. So hat Knorr zeigen können, daß bei Pferden eine Toxineinheit ca. 100000 Antitoxineinheiten erzeugt, und auch bei anderen Infektionen ist das gleiche bewiesen worden (Kolle). Es kann also eine einfache Umwandlung des Toxins in Antitoxin nicht vorliegen, denn nach der Buchnerschen Anschauung müßte ja ein Teil Toxin ein Aequivalent Antitoxin erzeugen. Weiterhin spricht gegen die direkte Entstehung des Antitoxins aus dem Toxin der große Unterschied, der zwischen der sogenannten aktiven (Ehrlich) oder isopathischen (v. Behring) Immunität gegenüber der passiven oder antitoxischen Immunität besteht. Immunisieren wir nämlich einen Organismus aktiv durch Toxin oder Kultur, so hält der auf diese Art und Weise gewonnene Zustand der Immunität bisweilen Jahre hindurch an, während die passive Immunität, die durch Immunserum übertragen ist, weit kürzer besteht. Dieser Unterschied wäre indessen unverständlich, wenn das Antitoxin ein modifiziertes Toxin wäre. Denn dann dürfte es in bezug auf das Verbleiben des Antitoxins im Organismus keinen Unterschied ausmachen, von welchem Organismus, ob von dem eigenen oder einem fremden, das Antitoxin stammt. Endlich spricht die Tatsache, daß auch im Blute der meisten, ja, wir können behaupten, aller erwachsenen Menschen (s. unten), ohne daß sie nachweisbar Diphtherie überstanden haben, Diphtherieantitoxin vorkommt, gegen diese Ansicht. Allerdings könnte man dagegen noch den Einwand erheben, daß alle Menschen, auch ohne daß es zu einer sichtbaren Diphtherieerkrankung kommt, mit Diphtheriebacillen in Berührung kommen. Dieser Einwand wird aber schon sehr unwahrscheinlich, wenn wir nachweisen können, daß auch das Serum normaler Pferde sehr häufig Diphtherieantitoxin enthält (Cobbett), da es sehr wenig plausibel ist, daß nun auch Pferde mit Diphtheriebacillen in Berührung gekommen sind. Ganz ausgeschlossen erscheint ein solcher Einwurf aber bei der Beobachtung v. Dungerns, wonach das normale

Kaninchenserum ein Antitoxin gegenüber dem auf Seeigelspermatozoen wirkenden Giftstoff der Seesterneier enthält. Wir werden noch weiter unten sehen, daß im normalen Serum die mannigfachsten Antitoxine, Antifermente usw. vorkommen.

Für die Ansicht, daß es sich bei der Bildung von Antitoxinen um eine Neubildung von Produkten seitens gewisser Zellen handelt, sprechen weiter auch die Experimente von Roux & Vaillard. Diese Autoren konnten nachweisen, daß man einem gegen Tetanus immunisierten Tiere durch öftere Aderlässe fast die gesamte Menge seines Blutes entziehen kann, und daß trotzdem das sich neuregenerierende Blut immer wieder dieselbe oder doch nahezu die gleiche antitoxische Höhe wie vorher besitzt, ohne daß eine neue Toxininjektion vorgenommen wurde. Salomonsen & Madsen zeigten das gleiche bei diphtherieimmunisierten Pferden. — Diese Autoren konnten weiterhin dartun, daß der Blutantitoxingehalt eines gegen Diphtherie aktiv immunisierten Pferdes nach Pilokarpininjektion steigt, d. h. also nach der Verabreichung eines Stoffes, welcher die Sekretion der Körperzellen im allgemeinen steigert.

Es drängt demnach alles zu der Annahme, daß die Antitoxine ein Produkt einer spezifischen Reaktion gewisser Zellen sind, die infolge der Einverleibung des Giftes hervorgerufen wird. Es ist dies eine Ansicht, die bereits von vornherein von v. Behring und von Ehrlich in ihren Arbeiten festgehalten worden war. Ihr schlossen sich seitdem wohl die weitaus größte Zahl der Autoren an.

Die neuerdings von T. Bang & Forssman gegen die obige Theorie vorgebrachten Argumente sind wenig stichhaltig, so daß sie von Ehrlich & Sachs mit geringer Mühe entkräftet werden konnten.

Für die Erklärung des Mechanismus, wie wir uns das Eintreten und Ablaufen dieser biologischen Reaktion, welche zum Auftreten der Antitoxine oder, ganz allgemein gesprochen, Antikörper führt, vorzustellen haben, ist die sogenannte Seitenkettentheorie oder Rezeptorentheorie Ehrlichs wichtig geworden. Die Seitenkettentheorie wird in einem besonderen Kapitel dieses Handbuches behandelt und dortselbst werden auch die Experimente, welche sie stützen, besprochen werden. Wir werden uns also hier nur so weit mit der Rezeptorentheorie beschäftigen, als es für das Verständnis des Nachfolgenden nötig ist. Ehrlich ging davon aus, daß es unter den vielen giftigen Substanzen nur eine gewisse Anzahl gibt, die echten Toxine, im Gegensatz zu den gewöhnlichen anderen organischen Giften, die imstande sind, spezifische Antitoxine zu bilden. Zwar wurde von Pohl behauptet, daß es ihm gelungen sei, auch gegen andere Substanzen als die echten Toxine, so gegen Solanin, ein spezifisches Antitoxin durch Immunisierung zu gewinnen, und ebenso wollte Hirschlaff zur Herstellung eines Antimorphiumserums gelangt sein. Indessen haben die Untersuchungen Bashfords und Besredkas (vgl. Metschnikoff) und diejenigen Morgenroths ergeben, daß man weder einen Antikörper gegen Solanin noch gegen Saponin, noch gegen Morphium erzielen kann. Vielmehr war der positive Erfolg der genannten Autoren ein irriger, indem sie Giftdosen verwendeten, die, zumal bei Resistenzerhöhung durch normales Serum, nicht sicher tödlich waren. Ob Ford & Abel bei ihren oben erwähnten Versuchen über Anti-

toxinbildung gegen das Gift aus Amanita phalloides tatsächlich ein reines Produkt als Antigen in Händen hatten, ist nicht bewiesen. Sollte es ein reines Glykosid gewesen sein, so wäre allerdings bewiesen, daß auch chemisch definierte Substanzen Antitoxinbildung veranlassen können. Es bleibt also als grundlegender Unterschied zwischen echten Toxinen und den anderen Giften die schon genannte Fähigkeit der Antitoxinbildung bestehen. Ehrlich weist nun darauf hin, daß die gewöhnlichen körperfremden Gifte, wie die Narcotica, Alkaloide usw. mit den Körperelementen keine feste chemische Verbindung eingehen, sondern daß ihre Verteilung im Organismus nach den Gesetzen der starren Lösung oder einer lockeren Salzbildung erfolge. Alle diese gewöhnlichen Gifte werden als solche unverändert in den Zellen aufgespeichert oder gelangen vermöge ihrer Lipoidlöslichkeit zur Wirkung (Theorie der Narkose von Overton & Meyer). Bei ihrer Verteilung in den Zellen der Organe spielen chemisch-synthetische Prozesse keine hervorragende Rolle. Andererseits ist es aber eine feststehende Tatsache, daß Stoffe unter synthetischen Prozessen in die Zellen eintreten können. Wir unterscheiden diese beiden Erscheinungsreihen durch den Ausdruck der Assimilierbarkeit, indem wir unter assimilierbar nur diejenigen Substanzen verstehen, welche synthetisch in den Zellen verankert, und welche durch diese Verankerung geradezu Bestandteile des Protoplasmas werden. Es ist also, um einen Vergleich zu brauchen, das Verhalten dieser beiden Gruppen von giftigen Stoffen so wie zwischen Saccharin und Zucker. Beide Substanzen schmecken süß, aber die eine vermag nicht einem Bestandteil der Zellen assimiliert zu werden, währenddem die andere, der Zucker, dies wohl vermag. Ein Alkaloid, z. B. das Strychnin, entspricht dem Saccharin, ein echtes Toxin, z. B. das Tetanustoxin, dem Zucker. Ehrlich faßt demnach den Begriff der Assimilationsfähigkeit enger und reserviert denselben ausschließlich für die spezifischen Nährstoffe des lebenden Protoplasmas. Er nimmt demgemäß an, daß der Assimilationsvorgang der Zellen ein synthetischer Vorgang ist, der die Anwesenheit zweier die Synthese vermittelnder Gruppen zur Voraussetzung hat, die zueinander eine chemische Affinität besitzen. Die Gruppe an dem zu assimilierenden Material, welche die zur Assimilierung unerläßliche Bindung an die Zelle besorgt, bezeichnet Ehrlich als haptophore Gruppe. Dem entspricht an der lebenden Zelle eine Gegengruppe, an welcher die haptophore Gruppe angreift, und diese Gegengruppe nennt Ehrlich die Seitenkette oder den Rezeptor. Es hat also das lebende Protoplasma Seitenketten oder Rezeptoren, welche zu den bestimmten Gruppen, den haptophoren Gruppen, der spezifischen Nährstoffe eine maximale chemische Verwandtschaft haben und diese deshalb an die Zellen verankern. Ehrlich sagt nun, das wesentliche Charakteristikum der echten Toxine und damit ihrer Fähigkeit, Antitoxine zu bilden, ist die Eigenschaft, daß sie nach Art eines Nährmaterials durch eine spezifische haptophore Gruppe an Rezeptoren gewisser Zellen richtig gebunden, also quasi der Zelle assimiliert werden können. Werden Substanzen, wie die Alkoloide oder Narcotica, nur locker gebunden, oder gehen sie bloß eine starre Lösung ein, so erfolgt keine Antikörperbildung. Diese erfolgt nur, wenn eine richtige chemische Verbindung, also der synthetische Eintritt in ein Molekül des lebenden Organismus, erfolgt.

Ehrlich unterscheidet demzufolge an jeder aktiven Substanz, gegen die wir immunisieren können, zwei Gruppen, vor allem die haptophore Gruppe, und zweitens die Funktionsgruppe. Diese Funktionsgruppe ist verschieden, je nach der biologischen Wirkung, welche die betreffende Substanz ausübt. So ist sie bei den Toxinen als die sogenannte toxophore Gruppe die Trägerin der Giftigkeit, bei den Fermenten als zymophore Gruppe die Trägerin der Fermentwirkung, bei den Agglutininen als agglutinophore Gruppe die Trägerin der agglutinierenden Funktion. Als durchgängiges Gesetz läßt sich dabei aufstellen, daß die Funktionsgruppe stets labiler ist als die haptophore Gruppe, also durch alle Schädlichkeiten, Wärme, chemische Mittel, sowie spontan beim längeren Stehen der betreffenden Substanzen leichter zerstört wird, während die haptophore Gruppe infolge ihrer größeren Stabilität noch erhalten bleibt. Daduch entstehen Reste — gleichsam Torsos — der ursprünglichen Substanzen, welche nur mehr die haptophore Gruppe, aber nicht mehr ihre Funktionsgruppe besitzen. Solche Substanzen nennt Ehrlich bei den Toxinen Toxoide, bei den Agglutininen nennen wir sie Agglutinoide, bei den Fermenten Fermentoide usw. Für die Aufstellung des Satzes, daß die Bindung an den Rezeptor, also die Funktion der haptophoren Gruppe, bei der Immunisierung das Ausschlaggebende ist, war für Ehrlich die Tatsache maßgebend, daß diese Torsos von Toxinen, die Toxoide, die man daran erkennt, daß sie nicht mehr für das Tier giftig sind, aber einer Antitoxinlösung später gegenüber trotzdem noch ihr ursprüngliches Antitoxinverbindungsvermögen erhalten haben (vgl. später), noch Antitoxin produzieren können. Es sind also nach Ehrlich die beiden nebeneinander laufenden Prozesse der Antitoxinbildung und der Giftwirkung insofern voneinander unabhängig, als sie von zwei differenten Gruppen, der haptophoren und toxophoren Gruppe, ausgelöst werden. Deshalb stellt Ehrlich als erste Bedingung für die Entstehung von Antikörpern, wie schon erwähnt, auf, daß eine Substanz an gewisse Zellen in dem obigen Sinne mittels einer haptophoren Gruppe richtig chemisch gebunden werden kann. Die weiteren Deduktionen Ehrlichs ergeben sich aus dem bisher Gesagten von selbst. Ehrlich sagt, daß durch die Besetzung der Rezeptoren seitens der haptophoren Gruppe für den Organismus eine Ausfallserscheinung, eine Defektbildung, gegeben sei und daß, wie der Organismus nach dem Weigertschen Gesetze jede andere Ausfallserscheinung nicht nur ad integrum restituiert, sondern überkompensiert, er auch in diesem Falle mehr Rezeptoren, als früher vorhanden waren, bilde. Dadurch tritt ein Ueberschuß an Rezeptoren ein, und dieser Ueberschuß wird seitens der Zellen in das Blut abgestoßen. Diese abgestoßenen Rezeptoren bilden dann das Antitoxin oder, allgemein gesprochen, die Antikörper. Die gleichen toxinophilen Gruppen (Rezeptoren), welche, solange sie innerhalb lebenswichtiger Organe sitzen, „Giftzuleiter" sind, sind „Giftableiter" für diese Organe, wenn sie außerhalb der Organe im Blute kreisen. Denn dann fangen sie das Gift schon dort ab und verhindern es so, in das lebende Organ zu gehen und es krank zu machen. v. Behring hat dies in dem Satze zusammengefaßt: „Dieselbe Substanz im lebenden Körper, welche, in der Zelle gelegen, Voraussetzung und Bedingung einer Vergiftung ist, wird Ursache der Heilung, wenn sie sich in der Blut-

flüssigkeit befindet.“ Dadurch erklären sich die beiden Haupteigenschaften der Antikörper, ihre Schutzwirkung und ihre Spezifizität von selbst. Gruber, der zwar ein Hauptgegner der Ehrlichschen Rezeptorentheorie ist, steht ebenfalls auf dem Standpunkt, daß die Antitoxinproduktion eine Sekretion sei. Indessen hat schon Paltauf mit Recht Gruber gegenüber erklärt, daß ein Uebertritt von Protoplasmateilen ins Blut, wie es Ehrlich annimmt, und eine „Sekretion“, wie Gruber es ausdrückt, eine Umschreibung der gleichen Tatsache ist. Auch die Ansicht von Landsteiner, wonach es sich bei der Antitoxinbildung um den Eintritt eines fremden Stoffes in ein im Gleichgewicht befindliches System von kolloidalen Stoffen handle, und daß zur Herstellung dieses früheren Gleichgewichtes eine Abspaltung aus diesem System stattfinde, deckt sich in den wesentlichen Punkten mit der Ehrlichschen Anschauung. Dagegen unterscheidet sich der Standpunkt von Metschnikoff (l. c.) durchaus von den bisher hier vorgetragenen Meinungen. Dieser Forscher schreibt die Fähigkeit der Antitoxinproduktion allein oder doch vor allen anderen Zellen den Makrophagen, den großen, einkernigen Leukocyten zu. Diese sollen die Sekretion der Antitoxine besorgen. So sicher es ist, daß bei der Produktion der Ambozeptoren (s. Kapitel Bakterizide Sera) nach den Untersuchungen von Pfeiffer & Marx und A. Wassermann den an Leukocyten reichsten Organen, vor allen Dingen Knochenmark und Milz, die hervoragende Rolle zufällt, so ist dieses allerdings für die Antitoxine nicht bewiesen. Zwar hat Römer Knochenmark und Milz als eine Bildungsstätte des Antiabrins nachweisen können. Doch hat, wie wir weiter unten sehen werden, derselbe Forscher auch gezeigt, daß andere Organe und damit auch andere Zellen unter bestimmten Verhältnissen imstande sind, Antiabrin zu bilden. Es würde hier zu weit führen, auf alle die zahlreichen Experimente, die Metschnikoff und seine Schule zur Stütze ihrer Ansicht ausgeführt haben, einzugehen, zumal diesem wichtigen Gegenstande seitens Metschnikoffs ein eigenes Kapitel in dem Handbuch gewidmet ist (vgl. Kap. Immunität vom Standpunkt der Phagocytentheorie). Nach den experimentellen Ergebnissen können wir bisher, wie es scheint, nicht als bewiesen betrachten, daß die Makrophagen die alleinige Quelle aller Antitoxine sind, sondern es ist jede Zelle, welche Gift zu binden vermag, auch imstande, Antitoxin zu produzieren. Daß unter diesen Umständen den Leukocyten, die die verbreitetsten Zellen im Organismus sind, eine hervorragende Rolle bei der Antitoxinproduktion zukommt, ist sicher. Man muß demnach in Uebereinstimmung mit Ehrlich wohl annehmen, daß das Wesentliche für die Antitoxinproduktion der Gehalt des lebenden Organismus an Zellen ist, die das Toxin nach der obigen Definition richtig binden können. T. Bang & Forssman widersprechen allerdings in neuerer Zeit auf Grund ihrer von Ehrlich & Sachs bekämpften Beobachtungen den Ehrlichschen Anschauungen.

Zur Stütze der Ehrlichschen Lehren müssen wir hier vor allem die Experimente betrachten, welche beweisen, daß gewisse Zellen mit Toxinen überhaupt eine echte Bindung einzugehen vermögen und daß weiterhin diese Eigenschaft in einer direkten Beziehung zu der Fähigkeit des Organismus, Antitoxin zu produzieren, steht. Die Tatsache, daß ein Toxin seitens gewisser Zellen gebunden wird, kann in vivo und in vitro geliefert

werden. In vivo ist die Versuchsanordnung die, daß wir ein Toxin einem lebenden Tier injizieren und nun nach einiger Zeit nachsehen, ob das in das Blut injizierte Toxin dortselbst noch vorhanden oder verschwunden ist. Ist das letztere der Fall, so beweist dies allerdings noch nicht, daß das Toxin nun nach unserer obigen Definition aus dem Blut heraus an Organe echt gebunden wurde, sondern es kann sich dabei auch um eine einfache, lockere Aufspeicherung, Adsorption in Organen handeln. Der Beweis, daß das Toxin in solchem Fall wirklich gebunden ist, wird vielmehr erst dadurch geliefert, daß wir die Emulsion sämtlicher Organe des Tieres auf Vorhandensein des Giftes prüfen. Ist es in bestimmten Organen nur locker gespeichert, dann werden diese Organe Giftwirkung ausüben. Dies kann aber nicht der Fall sein, wenn das Toxin an die Organe richtig gebunden ist. Denn dann ist seine haptophore Gruppe bereits durch die Rezeptoren in dem Organe besetzt und es kann dann ein solcher Organbrei mit gebundenem Gift in einem neuen Tiere keine Giftwirkung mehr auslösen. Derartige Versuche sind zahlreich angestellt worden. Was zunächst die Tatsache angeht, ob überhaupt die in die Blutbahn empfänglicher Tiere injizierten Toxine rasch aus derselben verschwinden, so ist dies schon seit langer Zeit durch die Untersuchungen von v. Behring (l. c.), Bronstein, Knorr (l. c.) Dönitz. Croly, Heymans, Décroly & Rousse, Kraus & Lipschütz, Heymans & Massoin für Diphtherie-, Tetanus-, Schlangengift, Bakteriohämolysine und selbst gewisse organische synthetische Gifte, wie für die Malon-Nitrile, nachgewiesen worden. Das Schwinden der injizierten Gifte aus der Blutbahn geht ungemein rasch vor sich, so daß beispielsweise bei Kaninchen schon nach einer Stunde nur mehr ein Viertel der injizierten Tetanustoxinmenge im Blute nachgewiesen werden kann, und für gewisse Bakterienhämolysine konnten Kraus & Lipschütz (l. c.) zeigen, daß sie schon 4 Minuten nach der Injektion im Blute nicht mehr nachgewiesen werden konnten. Indessen, wie schon oben erwähnt, beweisen diese Versuche noch nicht völlig, daß es sich bei diesem Verschwinden aus dem Blutplasma um eine echte Bindung an Organzellen handelt. Dies lehrt z. B. folgender Versuch von Metschnikoff. Er spritzte Skorpionen eine für Mäuse tausendfach tödliche Dose Tetanusgift ein, ohne daß die Tiere erkrankten. Als er nach wenigen Tagen das Blut untersuchte, konnte er das Toxin dort nicht mehr nachweisen. Untersuchte er nun aber die Organe, so zeigte sich die Leber stark gifthaltig, und dieses Verhalten konnte er noch nach Monaten feststellen. Demnach geht also bei diesem Tiere das Toxin wohl aus der Blutflüssigkeit heraus, indem es sich in gewissen Organen ablagert, aber es wird dort nicht gebunden (vgl. oben). Wir werden weiter unten bei der Würdigung dieses Experimentes für die Frage der Antitoxinbildung noch auf diesen Versuch des näheren zu sprechen kommen. Umgekehrt zeigt nun ein Experiment von Ransom, daß es sich bei dem Verschwinden des Tetanusgiftes bei Tieren, die imstande sind, Tetanusantitoxin zu bilden, tatsächlich um eine echte Bindung in gewissen Organen handelt. Injiziert man nämlich Tetanusgift empfänglichen Tieren, so findet man nach einiger Zeit alle Organe gifthaltig mit Ausnahme des Zentralnervensystems. In diesem Organ muß also das Tetanusgift richtig gebunden sein, denn sonst müßte auch dieses Organ wie alle übrigen, in denen das Toxin nur einfach abgelagert ist, toxisch wirken.

Noch beweisender aber für die Frage, ob Toxine an gewisse Zellen des Organismus richtig chemisch gebunden werden können, waren die zuerst von A. Wassermann & Takaki in vitro ausgeführten Experimente über die Bindungsmöglichkeit gewisser Organe gegenüber Toxinen. — Diese Versuche haben ergeben, daß zwischen Tetanustoxin und bestimmten Organen sich in vitro spezifisch bindende Eigenschaften nachweisen lassen. Die Organe, welche diese bindende Affinität zum Tetanustoxin bei der Vermischung im Reagenzglase zeigen, sind bei verschiedenen Tieren verschieden. Bei Menschen, Pferden, Meerschweinchen bindet nur das Zentralnervensystem, bei Kaninchen binden außerdem noch andere Organe, so die Leber und Milz, das Tetanusgift in vitro. Injiziert man also eine Mischung, beispielsweise von Meerschweinchengehirn-Emulsion und Tetanusgift, einem empfänglichen Tiere, z. B. einer Maus, so erkrankt dieses Tier, sofern man die richtigen Mengenverhältnisse gewählt hat, nicht. Diese Tatsache wurde durch die verschiedensten Untersucher, so durch Ransom, Metschnikoff, Marie, Blumenthal, Milchner, Danysz, Zupnik, Marx, Dönitz bestätigt. Insbesondere konnte Milchner zeigen, daß, wenn man Tetanusgift in vitro mit dem normalen Zentralnervensystem von Meerschweinchen in gewissen Mengenverhältnissen vermischt und zentrifugiert, die obenstehende Flüssigkeit nach dem Zentrifugieren giftfrei wird. A. Wassermann hat diese bindenden Beziehungen zwischen gewissen Organen, insbesondere der normalen Zentralnervensubstanz mancher Tiere und dem Tetanusgift, als einen spezifischen Vorgang erklärt, der analog sei der spezifischen Bindung zwischen Toxin und Antitoxin, wie dies im folgenden Kapitel auseinandergesetzt werden soll. Gegenüber dieser Deutung wurden zunächst von Metschnikoff (l. c.), der zwar die Richtigkeit des Experimentes anerkannte, Einwände erhoben. Metschnikoff kam zu dem Schlusse, daß es sich dabei nicht um einen spezifisch chemischen Bindungsvorgang, sondern vielmehr um eine mechanische Adsorption handle. Die Unschädlichkeit des Gehirn-Toxingemisches für Tiere komme dadurch zustande, daß der Gehirnbrei leukocytenanlockend wirke und die Leukocyten, welche den mit dem Gift mechanisch beladenen Gehirnbrei in sich aufnehmen, seien die wahre Ursache der scheinbar durch die Bindung der haptophoren Toxingruppe eintretenden Entgiftung bei der Mischung von Tetanusgift und Gehirnbrei. Das Gehirn sei also nur das Mittel, um die Leukocyten herbeizulocken. — Metschnikoff stützt sich dabei besonders auf Experimente von Studensky, wonach das Karmin imstande sei, ebenfalls Tetanusgift zu fixieren und seine giftige Wirkung für Meerschweinchen herabzusetzen. Demgegenüber ist die Ansicht aufrecht zu erhalten, daß es sich bei dem in Frage stehenden Phänomen um eine echte spezifisch bindende Affinität zwischen dem Tetanustoxin und gewissen Zellen des Zentralnervensystems handelt und daß die Entgiftung des Toxins durch den Gehirnbrei eine direkte Folge dieser Bindung und Verstopfung der haptophoren Gruppe des Toxins und nicht etwa der Einwanderung der Leukocyten sei. Dies wird am schlagendsten durch die von Dönitz erbrachte experimentelle Tatsache bewiesen, daß nur die graue, also zellenhaltige Substanz des Zentralnervensystems Tetanustoxin zu binden und damit für Tiere zu entgiften vermag, nicht aber die weiße Substanz. Es wäre nicht einzusehen, weshalb die Leukocyten gerade nur einen Brei aus grauer und nicht auch den aus

weißer Substanz in sich aufnehmen. Daß es sich ferner um einen spezifischen Vorgang handelt, geht daraus hervor, daß gekochtes Gehirn diese Fähigkeit nicht hat, sowie daß andere Gifte, die intra vitam zum Zentralnervensystem keine Beziehung zeigen, von diesem Organ auch nicht gebunden werden. Vielmehr konnten bindende Eigenschaften zwischen Gehirn und Toxin nur dann festgestellt werden, wenn es sich um Toxine handelt, die auch wirklich echte Neurotoxine sind, so z. B. für das Botulismusgift von Kempner & Schepilewsky und für die neurotoxische Komponente des Schlangengiftes von Flexner & Noguchi. Später haben dann v. Behring & Kitashima Einwände gegen diese Deutung erhoben, indem Kitashima bei Anwendung sehr großer Giftmengen gefunden haben wollte, daß die Gehirnmischung die Wirkung des nachträglich zugesetzten Antitoxins auf das Toxin störe. Marx (l. c.), der die Angabe von Kitashima nachprüfte, fand aber bei mehr als 200 Versuchen an Mäusen gerade das Gegenteil, daß nämlich die antitoxische Wirkung des Gehirns in vitro so ist, daß sie durch späteren Zusatz von Tetanusantitoxin einfach ergänzt wird. Marx kommt daher zu dem Schlusse, daß die Tetanusgift neutralisierende Wirkung des Meerschweinchengehirns und Tetanusantitoxins sich bei Einwirkung auf das Gift in vitro summieren und daß man weiter berechtigt ist, hieraus den Schluß zu ziehen, die Tetanusgift neutralisierenden Wirkungen des Meerschweinchengehirns und des Antitoxins seien Funktionen, die prinzipiell als gleichwertige angesehen werden müssen. Auch der von Danysz gemachte Einwand, daß man aus der Gehirn-Toxinmischung nach mehrere Tage währender Mazeration des Gehirnes das Toxin wiedergewinnen könne, spricht eher für eine feste Bindung und findet sein Analogon in der Möglichkeit des Wiedergewinnes von Toxin aus einer Toxin-Antitoxinmischung (s. unten). Am meisten aber spricht für die Ansicht, daß es sich bei der Tetanusgift neutralisierenden und bindenden Eigenschaft des normalen Zentralnervensystems um einen spezifischen Vorgang handelt, die vollkommene Uebereinstimmung, die man zwischen diesen Experimenten in vitro und den Experimenten über Tetanus in vivo nachweisen kann.

In erster Linie sei hier die Arbeit von Ransom erwähnt, in der nachgewiesen wurde, daß auch die Zentralnervensystemsubstanz des lebenden Tieres das Tetanusgift bindet. Beim Menschen und Meerschweinchen bindet ferner, wie schon erwähnt, von allen Organen nur das Zentralnervensystem, und zwar nach den Dönitzschen Versuchen nur die zellenreiche graue, nicht über die weiße Substanz desselben das Tetanusgift. In der Tat sehen wir intra vitam beim Menschen und bei diesen Tieren Symptome nur seitens des Zentralnervensystems auftreten. Beim Kaninchen dagegen konnten A. Wassermann & Takaki in vitro außer im Zentralnervensystem noch in anderen Organen bindende Gruppen nachweisen, und dementsprechend sehen wir bei dieser Tierart neben den spastischen Erscheinungen seitens des Zentralnervensystems noch pathologische Veränderungen seitens anderer Organe auftreten, wie dies gleichfalls Dönitz gezeigt hat. Ebenso stimmten mit den in vitro vorgenommenen Bindungsversuchen zwischen Tetanusgift und Organ die am lebenden Tiere ausgeführten Untersuchungen von Roux & Borrel überein. Wie schon öfters erwähnt, ergeben die Bindungsversuche in vitro, daß beim Kaninchen die bindenden Gruppen nicht auf das Zentralnervensystem

beschränkt, sondern im Gesamtorganismus zerstreut sind und dementsprechend konnten die genannten Forscher zeigen, daß beim Kaninchen zur Auslösung des Tetanus bei subkutan gegebenen Dosen ungleich größere Mengen Toxins notwendig sind wie bei direkter Einfuhr in das Gehirn. Beim Meerschweinchen dagegen ist die Dosis letalis bei intracerebraler und subkutaner Injektion die gleiche, einfach deshalb, weil im ersten Fall ein Teil des Giftes von den außerhalb des Zentralnervensystems zerstreuten Rezeptoren abgefangen wird, was bei der direkten Einfuhr in das Gehirn nicht möglich ist. Blumenthal (l. c.) gibt ferner an, daß die giftbindende Eigenschaft des Zentralnervensystems in vitro abnimmt, wenn dieses von Tieren stammt, denen zu Lebzeiten Tetanusgift injiziert worden war. Nach alledem dürfen wir es als feststehend betrachten, daß das Tetanustoxin an gewisse Zellen fest gebunden wird.

Daß neben dieser Bindung des Tetanustoxins seitens des Zentralnervensystems die physikalisch-chemische Adsorption eine gewisse Rolle spielen kann, mag zugegeben werden.

Nach Landsteiner & Raubitschek, Landsteiner & Eisler, Landsteiner & Botteri, sowie K. Takaki vermögen Lipoide auf Toxine ähnlich zu wirken wie sie nach Overton & Meyer für Narcotica wirksam sind, indem sie Lösungsmittel für diese Gifte darstellen. Auch nach Neufeld & Dold kommt dem Lecithin die Eigenschaft zu, gewissermaßen als Lösungsmittel für Diphtherietoxin zu dienen. Als solches toxinlösendes Lipoid fand speziell K. Takaki das aus dem Gehirn darstellbare Cerebron.

Indessen ist als das hauptsächlich wirkende Moment bei der Bindung von Toxin an Gewebe die spezifische chemische Affinität zwischen Toxin (haptophore Gruppe) und Zelle (Rezeptor) aufzufassen. Wolff-Eisner und A. Rosenbaum konnten dementsprechend zeigen, daß bei der Autolyse, also einem Eingriff, bei dem die Lipoide nicht verändert werden, die giftbindende Fähigkeit des Gehirns gegen Tetanus verloren geht, indem die Rezeptoren zerstört werden.

Marie & Tiffeneau sind nach ihren Versuchen ebenfalls der Ansicht, daß das Tetanustoxin von den Eiweißgruppen und nicht von den Lipoiden des Gehirns gebunden wird. Sie konnten, nachdem die neutralisierende Wirkung bereits eingetreten war, durch Trocknen des Gehirns oder durch Pepsinverdauung das Toxin wieder gewinnen, während nach Zerstörung der Lipoide durch deren Ferment, die Lipase, keine Giftwirkung auftrat.

Derartige bindende Eigenschaften, wie sie zwischen giftempfindlicher Zelle und Tetanustoxin nachgewiesen sind, wurden nun in der Folgezeit noch für zahlreiche andere Gifte gezeigt. In erster Linie konnten Ehrlich & Morgenroth in einwandfreier Weise die Bindung zwischen den empfänglichen Erythrocyten und dem zugehörigen Hämolysin resp. dem Ambozeptor beweisen. Das gleiche zeigte Madsen für Erythrocyten und Tetanolysin, Neisser & Wechsberg für das Staphylosin und andere Autoren lieferten für andere Blutgifte, so für Ricin, Schlangengift usw. den gleichen Beweis. Besonders wichtig sind in dieser Beziehung die Versuche von Sachs. Dieser Autor bewies, daß die für Kreuzspinnengift, das Arachnolysin, unempfänglichen Blutkörperchen, wie Meerschweinchenblutkörperchen, das Gift aus einer Lösung nicht an sich zu

binden vermögen, so daß also beim Abzentrifugieren in der Kälte das Gift in der Lösung bleibt. Dagegen beladen sich die Stromata empfänglicher Blutkörperchen, wie die des Ratten- und Kaninchenblutes, beim Abzentrifugieren in der Kälte, wobei die Auflösung der Erythrocyten durch das Gift verhindert wird, mit dem Toxin. Das gleiche zeigte Jacobi für Crotin. Zu dieser Gruppe von organspezifischen Giften muß nach den Untersuchungen von Doerr auch das Toxin des Bacillus dysenteriae Shiga-Kruse gerechnet werden, wenn auch hier in bestimmter Hinsicht Abweichungen vorliegen. Nach Doerr können kleine Mengen Dünndarmschleimhaut von Kaninchen die 100—200-fach tödliche Dosis Dysenterietoxin bei einfachem 2-stündigen Stehenlassen bei 37^{0} entgiften. Die anderen Organe von Kaninchen: Niere, Leber, Hirn, Milz, und andere Darmteile, Coecum, Processus vermiformis, Dickdarm, sowie der Dünndarm anderer Herbivoren besitzen die toxinneutralisierende Wirksamkeit des Kaninchendünndarms nicht.

Nach Doerr trifft die naheliegende Annahme der Einwirkung verdauender Fermente nicht zu. Vielmehr besitzt die sorgfältig gewaschene Dünndarmschleimhaut die antitoxische Fähigkeit nach wie vor.

Da aber gerade der Dünndarm bei der experimentellen Dysenterie der Kaninchen von pathologischen Veränderungen frei bleibt, so zeigt sich hier das gegenüber den obigen, an den Gehirntetanustoxinversuch anschließenden Experimenten, paradoxe Verhalten, daß ein, selbst nicht empfindliches Organ das Gift binden kann. Doerr nimmt als wahrscheinliche Ursache dieses antitoxischen Vermögens des Kaninchendünndarms das Vorkommen von Normalantitoxin in diesem Organe an. Uebrigens konnte Doerr nur bei der Hälfte der untersuchten Kaninchen die giftneutralisierende Wirkung der Dünndarmschleimhaut feststellen.

Durch alle diese Versuche ist also das Bestehen spezifisch bindender Beziehungen zwischen gewissen Zellen des lebenden Organismus und Toxinen sicher erwiesen.

Wie erinnerlich, haben wir im vorhergehenden die Ansicht ausgesprochen, daß zwischen dieser Bindung und dem Auftreten von Antitoxin ein direkter Zusammenhang bestehe. Demzufolge sind hier die experimentellen Belege dafür nötig, daß es tatsächlich in einem Organismus, bei dem wir bindende Beziehungen zwischen gewissen Zellen und einem Toxin, also das Vorhandensein einpassender Rezeptoren, im Ehrlichschen Sinne nachweisen können (sofern diese abstoßungsfähig sind), auch wirklich zur Antitoxinproduktion kommt. Umgekehrt darf ein Organismus, von dem wir nachweisen können, daß das betreffende Toxin nicht gebunden wird, bei der Immunisierung auch kein Antitoxin liefern. Für diesen Punkt sind besonders die Experimente Metschnikoffs über die Tetanusantitoxinproduktion bei Kaltblütern sehr wichtig. Schon oben haben wir angeführt, daß die Schildkröte keine Spur von Tetanusgift zu binden vermag. Tatsächlich tritt bei ihr auch keine Spur von Tetanusantitoxinbildung beim Immunisieren ein. Umgekehrt bindet der Alligator, wie Metschnikoff zeigen konnte, das Tetanusgift in gewissen Organen. Er erkrankt indessen nicht, weil die Zellen seines Zentralnervensystems gegen die toxophore Gruppe unempfänglich sind. Aber er bildet im Gegensatz zur Schildkröte reichliche Mengen von

Tetanusantitoxin. Aus diesem schönen Versuche geht also hervor, daß es tatsächlich in erster Linie die Funktion der haptophoren Gruppe, die Bindung ist, welche die unerläßliche Bedingung für die Antitoxinproduktion darstellt, während eine krankmachende Wirkung, wie dies der Alligator zeigt, dabei nicht nötig ist. Auch die Versuche von Sachs über Arachnolysin (s. oben) ergaben, daß Meerschweinchen, die für die giftige Wirkung dieser Substanz unempfänglich sind, dennoch imstande sind, Antikörper zu produzieren. Auch die Versuche von Kraus & Eisenberg und die von Ford beweisen, daß eine Antitoxinproduktion nur möglich ist in einem Organismus, dessen Zellen spezifisch bindende Beziehungen zu dem Ausgangskörper besitzen. Stets muß man sich indessen dabei vor Augen halten, daß die Bindung des Toxins, wie soeben an dem Beispiel des Alligators gezeigt wurde, nicht gleichbedeutend mit Erkrankung infolge des Toxins ist. Ja, es können die Organe, in denen die zur Antitoxinproduktion führende Bindung des Toxins erfolgt, ganz andere sein als diejenigen, in welchen die toxophore Gruppe ihre krankmachende Wirkung entfaltet. Das sehen wir beispielsweise bei der Tetanusantitoxinproduktion des Kaninchens und des Huhnes. Es ist daher der Einwand, den Gruber und Bordet gegen den direkten Zusammenhang zwischen Bindung und Antitoxinproduktion machen, indem sie sich darauf stützen, daß beispielsweise das Huhn Tetanusantitoxin bei Toxindosen produzieren könne, die nicht imstande seien, es an Tetanus erkranken zu machen, nicht stichhaltig. Denn, wie oben an dem Beispiel des Kaninchens auseinandergesetzt, gibt es eine Reihe von Tierarten, wozu nach den Versuchen von Roux & Borrel auch das Huhn gehört, die außer im Zentralnervensystem auch noch in anderen Organen ihres Körpers bindende Gruppen für das Tetanustoxin zerstreut haben. Solche Tiere können dann natürlich Antitoxin produzieren, ohne daß es zu krankhaften Symptomen von seiten des Zentralnervensystems kommt, indem die anderen Rezeptoren ihres Organismus die Antitoxinproduktion übernehmen. Es ist also irrig, diesen Punkt so aufzufassen, als ob ausschließlich nur die giftempfindlichen Zellen, d. h. diejenigen, welche durch die toxophore Gruppe krank gemacht werden können, Antitoxin zu bilden vermögen. Wir müssen uns dabei stets erinnern, daß nach Ehrlich ein Toxinmolekül wie überhaupt jedes zur Antikörperproduktion befähigte Molekül aus zwei getrennten Gruppen, der haptophoren und toxophoren resp. Funktionsgruppe besteht, daß also das Gift in Organen verankert werden kann, auf welche die toxophore Gruppe gar keine Wirkung hat.

Welche Beweise haben wir indessen für diese Ehrlichsche Annahme des Vorhandenseins getrennter Gruppen im Toxinmolekül? Früher stützte man sich dabei in erster Linie auf die Tatsache der langsamen Wirkung dieser Substanzen, also auf die Inkubation der Toxine. Man glaubte, daß diese Inkubation dadurch hervorgerufen sei, daß zuerst die haptophore Gruppe an das Organ verankert werde und dann erst nach einer gewissen Zeit die Wirkung der toxophoren Gruppe beginne. Indessen gibt es Gifte, z. B. das Ichthyotoxin und das Schlangengift, gegen die man Antitoxin produzieren kann und die trotzdem nur eine sehr kurze Inkubationszeit haben. Kraus fand im Vibriolysin des Vibrio Nasik ein zur Antitoxinproduktion befähigtes Toxin, das fast ohne Inkubation innerhalb 10—30 Minuten

nach der Injektion Tiere tötet. Dazu kommt noch, daß H. MEYER glaubt, die Inkubation beispielsweise bei dem Tetanusgift auch dadurch erklären zu können, daß das Toxin im Nervenstamm nur sehr langsam nach oben zum Zentralnervensystem diffundiere. Wir müssen also sagen, daß das Phänomen der Inkubation allein kein genügender Beweis für das Vorhandensein getrennter Gruppen im Toxinmolekül ist. Wohl aber ist ein Beweis dafür das Vorhandensein und die Bildung der Toxoide, die wir fast durchgängig bei den Körpern, mit denen wir immunisieren können, nachzuweisen vermögen. So für Diphtherietoxin (EHRLICH), für Ricin (JACOBY), für Abrin (RÖMER), Staphylotoxin (NEISSER & WECHSBERG, Vibriolysin (VOLK & LIPSCHÜTZ), Tetanolysin (ARRHENIUS & MADSEN), Cobragift (MYERS, FLEXNER), für die Komplemente (EHRLICH & MORGENROTH), für die Agglutinine (VOLK & EISENBERG, A. WASSERMANN), für Fermente (KORSCHUN) usw. Wir können über diesen Punkt hier kürzer hinweggehen, da in dem Kapitel über die Seitenkettentheorie in diesem Handbuch ausführlich über Toxoide berichtet ist. Das, was uns an dieser Stelle hauptsächlich von den Toxoiden interessiert, ist der Umstand, daß dies Körper sind, die an Giftigkeit in Vergleich mit den ursprünglichen Toxinen stark abgenommen, dagegen ihr Bindungsvermögen für Antitoxine und dementsprechend auch ihre immunisierende Fähigkeit — allerdings mit einer Einschränkung, auf die wir noch unten kommen werden — beibehalten haben. Den besten Beweis indessen für das Vorhandensein getrennter Gruppen im Toxinmolekül liefern die schönen Versuche MORGENROTHS über den Tetanus des Frosches. COURMONT & DOYON haben entdeckt, daß der Frosch nur bei höheren Temperaturen, nicht in der Kälte der Tetanusvergiftung erliegt. MORGENROTH konnte nun den Nachweis erbringen, daß auch bei niedriger Temperatur das Tetanustoxin von dem Frosche zwar gebunden wird, daß aber die toxophore Gruppe bei dieser Temperatur keine Giftwirkung ausübt und deshalb der Frosch in der Kälte nicht erkrankt. Den Nachweis der Bindung des Tetanustoxins bei den Kältefröschen erbrachte der genannte Autor auf folgende Weise: Er injizierte 3, 4, 5 Tage usw. nach Injektion des Toxins und Aufenthalt in der Kälte, den Fröschen eine Menge von Tetanusantitoxin, die das vorher injizierte Toxin hätte überreichlich neutralisieren müssen, wenn das Toxin noch frei kreisen würde, und brachte nun diese Frösche in die Wärme. Es trat bei allen Tetanus auf, eben weil bereits in der Kälte das Toxin gebunden war, als das Antitoxin in den Organismus gelangte. — Brachte MORGENROTH Frösche, die er sofort nach der Giftinjektion nur einen Tag höherer Temperatur ausgesetzt hatte, so daß noch kein Tetanus zu bemerken war, in die Kälte zurück, so blieben die tetanischen Symptome aus. Brachte er sie nun aber nach Tagen oder Wochen in die Wärme, so erkrankten sie, aber die Inkubationszeit war dann abgekürzt, indem während des eintägigen Aufenthaltes in der Wärme bereits auch ein Teil der toxophoren Gruppe, allerdings noch nicht genügend zur Krankheitsauslösung, hatte zur Wirksamkeit kommen können. Diese Experimente sprechen durchaus für das Vorhandensein getrennter Gruppen, der haptophoren und toxophoren, im Tetanustoxinmoleküle: die eine tritt bereits in der Kälte in Wirksamkeit, die andere erst in der Wärme. Wir wollen allerdings nicht verhehlen, daß GRUBER (GRUBER & v. PIRQUET) bezweifelt, ob diese

Versuche die Existenz zweier getrennter Gruppen im Toxinmolekül beweisen. Es würde hier zu weit gehen, wenn wir die Gegenargumente Ehrlichs gegen Gruber in extenso anführen wollten. Wir verweisen in dieser Hinsicht auf die Originalarbeit von Ehrlich.

Nach alledem dürfen wir sagen, daß die Eigenschaft einer Substanz, an gewisse Körperzellen gebunden zu werden, und die Möglichkeit der Antitoxinproduktion gegen diese Substanz so konstant nebeneinander nachzuweisen sind, daß wir wohl einen kausalen Zusammenhang zwischen beiden annehmen müssen. Schon oben haben wir indessen durchblicken lassen, daß wir zwar auf dem Standpunkte stehen, die Funktion der haptophoren Gruppe als die Conditio sine qua non für die Antikörperproduktion anzusehen, daß wir aber zweifeln, ob ausschließlich die Bindung an den Rezeptor genügt, die Antikörper im Serum auftreten zu lassen. Es wäre immerhin denkbar, daß die Bindung nur zu einer Vermehrung der Rezeptoren führt, daß aber die Abstoßung dieser Rezeptoren, also das, was Gruber u. a. die Sekretion der Antikörper seitens der Organe in das Blut nennen, erst noch eines besonderen Anstoßes, den wir wohl als „Reiz" bezeichnen müssen, bedarf. Ehrlich & Morgenroth geben dem selbst Ausdruck, indem sie schreiben: „Allerdings erreichen bei manchen Immunisierungen die Neubildungsvorgänge ein so ungewöhnlich hohes Maß, daß man an einen bestimmten, durch das Toxin- oder Toxoidmolekül bedingten besonderen Zellreiz denken muß." A. Wassermann drückte sich auf Grund von Experimenten von Strong ebenfalls dahin aus, daß zur Antikörperproduktion mit der Bindung an die Zellen ein Reiz verbunden sein müsse, daß also der „Bindungsreiz" zur Antikörperproduktion führe. Auch v. Dungern ist der gleichen Ansicht. v. Dungern sagt: „Bei dieser Sachlage kann die einfache Außerfunktionsstellung der Rezeptoren nicht gut zur Erklärung der Antikörper verwandt werden." Für diese Ansicht spricht auch die Arbeit von Bruck, der nachweisen konnte, daß man mit vollständig ungiftigen Tetanusgiften bei Kaninchen kein Tetanusantitoxin produzieren kann, währenddem Toxoide, sobald sie auch nur mehr eine Spur der toxophoren Gruppe enthielten, Antitoxin produzieren. Es scheint also die einfache Besetzung der Rezeptoren nicht zu genügen, sondern es muß, wie gesagt, dazu noch ein gewisser Reiz hinzukommen.

Was nun die Frage angeht, ob nur die giftempfindlichen oder auch andere Zellen zur Antitoxinproduktion befähigt sind, so ist diese bereits oben beantwortet. Wir haben dortselbst an dem Beispiele der Tetanusantitoxinproduktion seitens des Huhnes und des Kaninchens gezeigt, daß jede Zelle, die Toxin binden kann, auch wenn die toxophore Gruppe auf sie nicht spezifisch krankmachend wirkt, befähigt ist, Antitoxin zu produzieren. Dies ist noch besonders durch die Versuche von Römer sowie v. Dungern über lokale Antitoxinbildung bewiesen. Römer hatte Kaninchen durch Aufträufeln von Abrin auf das rechte Auge immunisiert und dann im Beginn der dritten Woche getötet. Verrieb er nun die rechte Conjunctiva mit einer tödlichen Dose von Abrin und spritzte diese Mischung einem Tiere ein, so blieb letzteres ganz gesund, dagegen zeigte die linke Conjunctiva desselben Tieres bei dem gleichen Versuche keine Spur von Antiabrin. Dadurch ist also bewiesen, daß die Zellen, die in die Lage gekommen waren, Abrin zu binden, Antiabrin gebildet haben. Ganz ähnlich konnte v.

Dungern (l. c.) dies bei einem Gegenkörper gegenüber dem Majaserum nachweisen. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß jede Zelle, die Toxin zu binden vermag, auch lokal Antitoxin produzieren kann.

Wirkung der Antitoxine auf die Toxine.

A. In vitro.

Betreffs der Wirkung der Antitoxine auf die Toxine hatte v. Behring sich folgendermaßen ausgedrückt: „Die Immunität von Kaninchen und Mäusen, die gegen Tetanus immunisiert sind, beruht auf der Fähigkeit der zellfreien Blutflüssigkeit, die toxischen Substanzen, welche die Tetanusbacillen produzieren, unschädlich zu machen.“ Dieses Unschädlichmachen konnte nun in verschiedenem begründet sein. In erster Linie konnte es sich dabei um eine Zerstörung des Toxins handeln. Daß dieses nicht der Fall ist, wurde durch die Versuche von Calmette und A. v. Wassermann bewiesen, indem diese Autoren aus einem neutralisierten Gemisch von Toxin-Antitoxin bei Schlangengift rsp. Pyocyaneustoxin nach Erhitzen der Mischung über die Zerstörungstemperatur des Antitoxins hinaus die Giftwirkung wieder herstellen konnten. Auch die Versuche von Buchner und die von Roux & Vaillard sprachen gegen eine direkte Zerstörung der Toxine durch die Antitoxine. Buchner konnte zeigen, daß Tetanustoxin-Antitoxingemische, die für Mäuse bis zur Unschädlichkeit neutralisiert, für Meerschweinchen noch wirksam waren. Durch die weiter unten noch zu besprechenden Arbeiten von Morgenroth ist endgültig bewiesen, daß eine Toxinzerstörung durch Antitoxine nicht stattfindet. — Roux & Vaillard fanden, daß für normale Meerschweinchen unschädliche Tetanustoxin-Antitoxingemische bei solchen Meerschweinchen, denen vorher andere Bakterienarten einverleibt worden waren, wiederum Tetanuswirkung zeigten. Buchner sowie Roux kamen auf Grund ihrer Versuche zu der Ansicht, daß es sich bei der Wirkung des Antitoxins demnach nicht um eine direkte Einwirkung auf das Toxin handle, sondern nur um eine Art schnellster Immunisierung der Zellen gegen das Gift. Es wirke also das Antitoxin immer erst auf dem Umwege der Zelle auf das Toxin. Diese Ansicht war von vornherein unwahrscheinlich, denn unter diesen Umständen müßte das Antitoxin eine stärkere Wirkung auf das Toxin haben, wenn wir es vor der Toxininjektion einem Tier verabreichen. Das ist aber nicht der Fall. Vielmehr wirkt das Antitoxin dann am günstigsten, wenn es mit dem Toxin gleichzeitig an der gleichen Stelle injiziert wird. So zeigte Römer (l. c.), daß bei gleichzeitiger Einträufelung von Abrin und Antiabrin die entzündungserregende Wirkung des Abrins auf das Kaninchenauge nicht eintritt, dagegen wohl, wenn das Antiabrin vorher appliziert wurde, eine Tatsache, auf die übrigens für andere Bakterientoxine schon vorher von Aronsohn hingewiesen worden war. Endgültig wurde aber die Ansicht, daß es sich bei der Einwirkung von Antitoxin auf Toxin um einen d i r e k t e n c h e m i s c h e n, ohne jede Mitwirkung von lebenden Zellen zustande kommenden Vorgang handle, durch die Reagenzglasversuche Ehrlichs am Ricin nachgewiesen. Ehrlich konnte dartun, daß die in vitro eintretende Agglutination der roten Blutkörperchen durch Ricin mittelst des Zusatzes von Antiricin aufgehoben wird. Da diese antitoxische Wirkung des Serums ricinfester Tiere in vitro auch auftrat, wenn die Blutkörperchen vorher

mit Kochsalz, Kalium nitricum oder Kalium chloratum gesättigt und sicher abgetötet worden waren und andererseits durch Ricin ähnliche Gerinnungsvorgänge auch in Fibrinlösungen hervorgerufen, durch Antiricin gehemmt werden können, so schloß Ehrlich, daß es sich bei dieser antitoxischen Wirkung in vitro um einen rein chemischen Vorgang handle, bei dem lebende Zellen keine Rolle spielen. Aehnliche antitoxische Wirkungen an Zellen im Reagenzglase konnten zeigen Denys & van de Velde, Bail für das Leukocidin in Staphylokokkenkulturen und das Antileukocidin, Camus & Gley sowie H. Kossel für die Wirkung des Aalserums auf Erythrocyten, Kanthak, Steffens & Myers für Schlangengift, Neisser & Wechsberg für das Staphylotoxin, Ehrlich & Madsen für das Tetanolysin u. a. m. Besonders beweisend für diese direkte Wirkung des Antitoxins ohne Vermittlung lebender Zellen ist ferner der Nachweis der Wirkung des spezifischen Antilabs auf das Labferment, wie dieser durch v. Dungern, Morgenroth sowie Briot geliefert wurde. Auch die Versuche von Lang, Heymans & Massoin, wonach unterschwefligsaures Natron sich im Tierkörper gegenüber Blausäure wie ein echtes Antitoxin verhält, sprechen für die rein chemische Wirkung der Antitoxine auf die Toxine. v. Behring schließt sich ebenfalls dieser Ansicht an. Es ist also die Wirkung der Antitoxine auf die Toxine eine direkte, nach chemischen Gesetzen verlaufende, indem derselben eine gegenseitige Bindung zweier mit spezifischer Avidität versehenen Gruppen zugrunde liegt. Auch die von Ehrlich sowie Knorr gefundene Tatsache, daß die Wirkung von Antitoxin auf Toxin bis zu einem gewissen Grade genau wie bei anderen chemischen Reaktionen, von Konzentration, Temperatur, Medium und Salzgehalt der Flüssigkeit, in welcher die Reaktion vor sich geht, abhängig ist, spricht für die rein chemische Natur der Toxin-Antitoxinwirkung. Die Avidität des Antitoxins zu dem Toxin ist bei verschiedenen Giften verschieden. So konnte Ehrlich (l. c.) bereits nachweisen, daß die Bindung zwischen Tetanustoxin und -antitoxin viel langsamer verläuft als beispielsweise zwischen Diphtherietoxin und -antitoxin oder wie zwischen Schlangengift und seinem Antitoxin. Ehrlich zeigte, daß bei einem wenig konzentrierten Gemisch von Tetanolysin und Antitetanolysin die Wirkung, wenn man das Gemisch zwei Stunden stehen läßt, 40mal so groß ist, als wenn man die Mischung sogleich benutzt. Dagegen ist die Avidität des Diphtherietoxins zum -antitoxin eine viel höhere, so daß das Optimum der Sättigung schon nach wenigen Minuten des gegenseitigen Einwirkens erreicht ist. Morgenroth nimmt an, daß das Unterhautzellgewebe das Meerschweinchens ähnlich wie ein Katalysator beschleunigend auf die Bindung zwischen Diphtherietoxin und -antitoxin einwirke. Mit der Zeit der Einwirkung wird die Bindung zwischen Toxin und Antitoxin immer stärker. Dies demonstrieren besonders schön die Versuche von Martin & Cherry. Diese Autoren zeigten, daß man ein äquilibriertes Gemisch von Schlangengift und Gegengift mittels Filtration durch Gelatine nach einiger Zeit der gegenseitigen Einwirkung noch trennen kann, so daß das ablaufende Filtrat wieder giftig wird. Die Gelatine läßt nämlich bei der Filtration unter Druck nur kolloidale Moleküle von einer gewissen Größe durch. Da nun das Toxinmolekül kleiner ist als das Antitoxinmolekül, so geht nach einer bestimmten Zeit, wenn die Bindung dieser beiden in der Mischung noch

nicht zu fest geworden ist, das Toxinmolekül noch durch die Poren, während das Antitoxin zurückgehalten wird. Nach einiger Zeit ist aber die Bindung so stark geworden, daß die beiden Moleküle durch Filtrieren nicht mehr auseinanderzureißen sind, und dann ist das ablaufende Filtrat nicht mehr toxisch.

Was die Mengenverhältnisse angeht, in denen sich Toxin und Antitoxin miteinander binden, so stellte Ehrlich hierfür das Gesetz der konstanten Multipla auf: „10 Volumina Toxin binden 10 Volumina Antitoxin, 100 Volumina Toxin 100 Volumina Antitoxin" usw. — Es binden sich also nach Ehrlich die beiden Stoffe nach festen, quantitativen Verhältnissen. Das Verhältnis einer bestimmten Toxindosis zu der Menge Antitoxin, die sie gerade neutralisiert, ist stets ein absolut konstantes. Corbett & Kanthak wiesen nach, daß die Multipla sich genau der Theorie entsprechend verhalten, sofern man von Anbeginn an mit einer mehrfach tödlichen Dose arbeitet. v. Behring will dagegen die strenge Proportionalität nur nach zweitägigem Kontakte beider Substanzen haben nachweisen können. Dieses Ehrlichsche Gesetz der konstanten multiplen Proportionen ist jedoch vielfachen Einwänden ausgesetzt worden. Wie weiter unten noch zu besprechen sein wird, gründen sich die Einwände gegen die Gültigkeit dieses Gesetzes auf Erscheinungen, die bei der unvollständigen Neutralisation von Toxin durch Antitoxin zutage treten. Sachs weist darauf hin, daß zum Studium gerade dieser Frage nur sicher neutralisierte Toxin-Antitoxingemische verwendet werden dürfen. In Gemischen, die sich physiologisch neutral verhalten, d. h. Meerschweinchen nicht mehr zu töten imstande sind, also keine Dosis letalis von freiem Toxin mehr enthalten, kann aber noch ein kleiner Rest von ungebundenem Toxin enthalten sein. Bei Verwendung von Multiplen kann dieser Toxinüberschuß dann durch physiologische Wirkung sich geltend machen. Durch dieses Verhalten sind wohl die Versuche von Theobald Smith zu erklären, der mit solchen Gemischen noch aktive Immunität erzielen konnte.

Durch Außerachtlassen dieser Kautelen sind verschiedene Forscher zu Schlußfolgerungen, die sich gegen die Gültigkeit des Gesetzes der Multipla richten, gekommen.

Die Angriffe galten jedoch nicht immer nur diesem Gesetz, sondern richteten sich meistens gegen die ganze Auffassung Ehrlichs, daß Toxin und Antitoxin auf chemischem Wege sich binden und so eine neutrale Verbindung entsteht.

Nach dem heutigen Stande dieser Kontroversen kann man den Satz von L. Michaelis bestätigen, mit dem er die Abhandlung über physikalische Chemie der Toxin-Antitoxinbindung schließt: „Als Ursache für die spezifische Affinität von Toxin und Antitoxin werden wir also rein chemische Kräfte ansprechen müssen und wir werden sie vorläufig nur durch das von Emil Fischer zunächst für die Fermente geschaffene Bild vom „Schlüssel" und „Schloß" verstehen, und die Entstehung des „Schlüssels" im lebenden Organismus als Reaktionsprodukt auf das „Schloß" nur durch die Ehrlichsche „Seitenkettentheorie" begreifen.

Neben der Ehrlichschen Auffassung über die spezifische Bindung von Toxin und Antitoxin sind es zwei auf physikalisch-chemische Gesetze aufgebaute Theorien, welche dieses Phänomen zu ergründen suchten.

Die Erklärung der Toxin-Antitoxinreaktion als Adsorptionserscheinung von Kolloiden geht im Grunde zurück auf Anschauungen von Bordet. Nach Bordet beruht die Bindung zwischen Toxin und Antitoxin, ebenso wie andere Antigen-Antikörperbindungen, auf Molekularadhäsion, also auf mechanischer Adsorption. Ausdrücklich betonen Biltz, Much & Siebert, daß es sich dabei nicht um eine chemische Reaktion handle.

Indessen reicht diese Auffassung des Vorganges zur Erklärung nicht aus, weil hierbei die Spezifität und die Erscheinung des Reaktionsgleichgewichts nicht erklärt werden.

Die durch mechanische Adsorption zustandegekommenen Bindungen, wie sie etwa bei der Adsorption eines Farbstoffs durch Kohle oder Cellulose auftreten, sind nicht spezifisch. Wie L. Michaelis ausführt, können spezifische Unterschiede hierbei nicht zutage treten, da ein Stoff, der von Kohle adsorbiert wird, ebenso von Cellulose adsorbiert werden kann. Die Tierkohle kann Diphtherie-Antitoxin ebenso wie Tetanusantitoxin adsorbieren. L. Michaelis weist ferner darauf hin, daß die Adsorption seitens aller anderen bekannten Adsorbentien durchaus nicht einfach einen mechanischen Vorgang darstellt, sondern als echte chemische oder elektro-chemische Reaktion aufzufassen ist.

Was das Reaktionsgleichgewicht, worauf weiter unten noch einzugehen sein wird, betrifft, so gelten hier für die mechanische Adsorption andere Gesetze, wie für die Bindung zwischen Toxin und Antitoxin. Ein Teil der (mechanischen) Adsorptionsbindungen ist reversibel, ein Teil irreversibel, während die Bindung Toxin-Antitoxin weder gänzlich reversibel noch gänzlich irreversibel ist.

Schließlich weist L. Michaelis noch darauf hin, daß es sich bei dem Antitoxin nicht nur um eine chemisch nicht darstellbare und isolierbare Substanz handle, sondern, daß sie in sich möglicherweise, wie es z. B. von den Agglutininen bewiesen ist, Komplexe von verschiedener Avidität enthalte. Die Adsorption bei derartigen Körpern verläuft aber nach anderen Gesetzen wie bei chemisch einheitlich zusammengesetzten. L. Michaelis läßt daher die Auffassung der Toxin-Antitoxinbindung als Adsorptionserscheinung nur in dem Sinne gelten, daß er darunter eine Adsorption mit chemischer Zustandsänderung versteht. L. Michaelis nennt sie „anomale Adsorption" als Ausdruck dafür, daß diese Bindung nicht nach den Gesetzen der einfachen mechanischen Absorption, sondern nach anderen noch unbekannten Gesetzen verläuft.

Abweichend von der auf Bordet zurückgehenden Adsorptionstheorie wandte Arrhenius die Lehren der psysikalischen Chemie auf die Bindung zwischen Toxin und Antitoxin an.

Arrhenius & Madsen stellten fest, daß das Toxin und das Antitoxin in ihrer Lösung einen osmotischen Druck ausübt. Sie ließen zu diesem Zweck jene Substanzen bei 6° in Zylinder aus erstarrter Gelatine diffundieren und bestimmten nach Ablauf einer gewissen Zeit den Toxin- resp. Antitoxingehalt ausgeschnittener Stücke der Gelatine. Sie fanden z. B. als Diffusionskonstanten des Diphtherietoxins 0,0142, des Diphtherieantitoxins 0,00149, also bedeutend weniger wie z. B. bei Kochsalz, dessen Diffusionskonstante unter den gleichen Bedingungen mit 0,95 gefunden wurde.

Mit dem Nachweis eines osmotischen Druckes wäre für Arrhenius & Madsen die Bedingung erfüllt, Toxin und Antitoxin als echte Lösungen zu betrachten und sie wandten demzufolge die hier gültigen Gesetze an. Durch die Anwendung des Guldberg-Waageschen Massenwirkungsgesetzes*) auf die Bindung von Tetanolysin und Antilysin sowie von Diphtherietoxin und Antitoxin gelangten Arrhenius & Madsen auf rechnerischem Wege zu denselben Resultaten, die sie bei der gegenseitigen Absättigung im Reagenzglas fanden. Sie halten deswegen die Annahme der von Ehrlich zur Erklärung der dabei zu beobachteten Erscheinungen eingeführten Toxoide für entbehrlich und unzutreffend. Indessen gilt das Massenwirkungsgesetz nur für vollkommen reversible Reaktionen. Nernst, Biltz, Zangger, Bredig, v. Dungern wandten gegen Arrhenius ein, daß die Bindung zwischen Toxin und Antitoxin nicht ohne weiteres als reversibel angesehen werden darf.

Im allgemeinen kann man wohl sagen, daß ein abschließendes Urteil über diese Fragen heute noch nicht zu fällen ist. Insbesondere sind es die Versuche von Danysz sowie die Morgenroths, die der Anwendung der physikalischen Chemie auf die Toxin-Antitoxinbindung im Wege stehen.

Danysz stellte fest, daß, wenn man eine bestimmte Menge Toxin (Ricin) mit der zugehörigen Menge Antitoxin (Antiricin) versetzt hat, so daß das Gemisch ungiftig geworden ist, die Art des Antitoxin-Zusatzes von großer Bedeutung ist. Die entgiftende Wirkung tritt nämlich nur dann ein, wenn die Antitoxinmenge auf einmal zugesetzt wird; setzt man dagegen die gleiche Quantität Antitoxin allmählich in kleineren Portionen zu, so genügt diese Menge nicht mehr zur Neutralisierung, sondern es ist alsdann zur Neutralisierung einer konstanten Menge Toxins eine größere Quantität Antitoxins notwendig. (Danyszsches Phänomen).

Arrhenius deutete dieses Phänomen im Sinne seiner oben erwähnten Auffassung analog einem einfachen chemischen Vorgang: Versetzt man Monochloressigsäure auf einmal mit der notwendigen Menge Natronlauge, so wird die Säure neutralisiert. Gibt man die Natronlauge aber portionenweise zu, so wird zur Erzielung des gleichen Effekts eine größere Menge verbraucht. Der Mehrverbrauch rührt daher, daß bei allmählichem Zusatz das Chlor der Säure mit dem Natron reagiert und aus der Monochloressigsäure Glykolsäure entsteht, zu deren Neutralisierung eben dann ein Plus von Natronlauge nötig ist. Arrhenius nimmt an, daß so wie hier das Alkali bei allmählichem Zusatz durch Umwandlung der Säure teilweise verbraucht werde, so auch ein Teil des Antitoxins zur Zerstörung des Toxins gebraucht werde und so ein Mehrbedarf von Antitoxin zur völligen Neutralisierung resultiere.

Morgenroth zeigte jedoch, daß das nicht der Fall ist. Morgenroth und seine Mitarbeiter zeigten, daß eine Zerstörung des Toxins nie, auch nicht in jahrealten abgelagerten Toxin-Antitoxinmischungen

---

*) Das Massenwirkungsgesetz lautet in der Fassung von Höber folgendermaßen: Wenn zwei Stoffe bei bestimmter Temperatur miteinander in Berührung gebracht werden, so ist das, was sich ereignet, nicht bloß von den chemischen Eigenschaften der Stoffe bestimmt, sondern es kommt für die Wirkung auch noch auf die „aktive Masse" oder Konzentration der beiden Stoffe an.

eintrete. Sie konnten durch Behandlung dieser Gemische mit einer verdünnten Salzsäurelösung Toxin und Antitoxin quantitativ wieder gewinnen. Es gelang dies bis jetzt bei Mischungen von Cobraneurotoxin, Cobrahämolysin, Diphtherie-Botulismustoxin, Abrin, Labenzym und ihren spezifischen Antitoxinen resp. Antifermenten. Es ist also ein allgemein gültiges Gesetz, daß das Toxin vom Antitoxin nicht zerstört wird.

Die Deutung des Danyszschen Phänomens im Sinne von Arrhenius stößt daher bei vielen Autoren auf Widerspruch.

Die Morgenrothschen Arbeiten rücken aber zugleich die Frage nach dem Schicksal der Toxin-Antitoxinbindung in ein neues Licht. Während man früher zwar wußte, daß Toxin und Antitoxin nach einer gewissen — immerhin aber relativ kurzen — Zeit noch zu trennen sind, aber dann annahm, daß die Bindung nach längerer Zeit nicht mehr zu trennen sei, und von „sekundärer Festigung" der Bindung sprach, sind diese Anschauungen präzisiert worden. Wie auch Arbeiten von M. v. Krogh zeigen, tritt zuerst zwischen Toxin und Antitoxin eine Adsorption ein, der nach mehr oder weniger langer Zeit eine Entgiftung folgt. Die Entgiftung geht aber auf chemischem Wege vor sich; denn wie Morgenroth zeigte, ist sie auch auf chemischem Wege wieder aufzuheben. Wir kommen also auf die ursprüngliche Ansicht von Ehrlich zurück, der den Kern der Toxin-Antitoxinbindung in einer chemischen Reaktion sieht.

Darüber kann jedenfalls kein Zweifel obwalten, und das interessiert uns hier vom medizinischen Standpunkte aus in erster Linie, daß die Wirkung des Antitoxins auf das Toxin eine direkte chemische ist und derart erfolgt, daß das Antitoxin die haptophore Gruppe des Toxins besetzt und sich mit ihr bindet. Allerdings kann man dann darüber noch im Zweifel sein, ob diese Bindung ausreicht, um die schützende Wirkung des Antitoxins im lebenden Organismus zu erklären. Nach der Ehrlichschen Auffassung genügt sie, denn durch die Besetzung der haptophoren Gruppe des Toxinmoleküles ist dieses nunmehr verhindert, an den Rezeptor der lebenden Zelle heranzugehen und so seine toxophore Gruppe mit dem lebenden Protoplasma in Kontakt zu bringen. — Dadurch ist die Giftwirkung aufgehoben. — Andere Autoren wie Kretz sowie Metschnikoff sind indessen der Ansicht, daß zu der Antitoxinwirkung, wie wir sie hier beschreiben, also zu dieser Bindung erst noch ein zweiter Faktor seitens des Organismus hinzukommen müsse, um das Gift für den Tierkörper unschädlich zu machen. Es handle sich also bei der Wirkung der Antitoxine um einen ähnlichen Mechanismus, wie wir ihn bei den bakteriziden Seris in der kombinierten Wirkung des Ambozeptors und Komplementes finden werden (s. Kapitel Bakterizide Sera). Die Versuche von A. Wassermann, wonach der Zusatz eines antikomplementhaltigen Serums die Wirkung des Antitoxins in keinerlei Weise beeinträchtigt, während es im Gegensatz hierzu die Wirkung der bakteriziden Sera aufhebt, sprechen allerdings für die Ansicht von Ehrlich, daß bei der antitoxischen Wirkung nur die Bindung des Toxinmoleküls und außer dem Antitoxin keine andere Substanz in Frage kommt. Jacoby sowie Danysz haben beobachtet, daß beim Mischen von Ricin-Antiricin in vitro ein Niederschlag infolge der entstehenden Toxin-Antitoxinverbindung eintritt. Auch für Abrin

wurde das gleiche gefunden. — Beim Mischen von Bakterientoxinen mit Antitoxinen tritt indessen ein solches Phänomen nicht auf, bei diesen bleibt die Lösung klar.

b) In vivo.

Wenn wir uns nunmehr zu der Wirkung der Antitoxine auf die Toxine im lebenden Organismus wenden, so sind hierfür die Kenntnisse maßgebend, die wir auf Grund der im vorigen Kapitel angeführten Versuche kennen gelernt haben. Wir haben dort gesehen, daß bei der Mischung von Toxin und Antitoxin im Reagenzglas durch Vereinigung der haptophoren Gruppen eine Verbindung entsteht, die wieder zerreißbar ist. Durch eine bestimmte Versuchsanordnung ist es A. v. Wassermann & C. Bruck gelungen, die Gültigkeit dessen, was wir bei den Reagenzglasversuchen kennen gelernt haben, auch für den lebenden Organismus nachzuweisen. Die diesbezüglichen Versuche wurden mit Tetanusgift und Tetanusantitoxin an Meerschweinchen ausgeführt und die Versuchsanordnung gründete sich auf die von Meyer & Ransom gefundene Tatsache, daß das Tetanusgift zum Teil in den peripheren Nerven nach aufwärts zum Zentralnervensystem wandert. Andererseits nimmt das Antitoxin, wie wir wissen, seinen Weg durch die Blut- resp. Lymphbahn. Es war also die Möglichkeit gegeben, falls man bei Tieren die Blut- resp. Lymphbahn verlegte, dadurch im Organismus eine Zerreißung des für normale Tiere neutralisierten Tetanustoxin-Antitoxingemisches herbeizuführen, also in vivo aus einem neutralen Tetanustoxin-Antitoxingemisch die Toxinwirkung wieder herzustellen. Zu diesem Behufe bedienten sich Wassermann & Bruck des Adrenalins. Stellt man sich eine gerade neutralisierte Mischung von Tetanustoxin und -antitoxin her, die, in die Hinterpfote eines Meerschweinchens injiziert, eben reaktionslos vertragen wird und injiziert diese gleiche Mischung einem ebenso großen Meerschweinchen, bei dem man indessen durch vorhergehende Injektion von Adrenalin die Gefäße der Hinterpfote zur Kontraktion gebracht hat, so erkrankt dies Tier im Gegensatze zu dem ersten an typischem Tetanus. Nach dem eben Gesagten ist dieser Ausgang leicht zu verstehen, indem durch das Adrenalin die Resorptionsbahn für das Antitoxin, die Blut- und Lymphgefäße, verlegt wird, währenddem eine der Resorptionsbahnen für das Toxin, die peripheren Nerven, nach wie vor offen ist. Dadurch entsteht eine Zerreißung der Verbindung in vivo, indem sich das Toxin von dem Antitoxin trennt, um seine offenstehende Resorptionsbahn einzuschlagen. — Es ist dies also ein analoger Versuch in vivo, wie ihn Martin & Cherry mit ihrer Gelatinefiltration für Schlangentoxin und -antitoxin in vitro gemacht haben. Uebereinstimmend mit diesem Versuch läßt sich nun auch hier in vivo bei unserer Versuchsanordnung leicht nachweisen, daß die Bindungseigentümlichkeiten, die Ehrlich sowie Knorr für Tetanustoxin und -antitoxin in vitro gezeigt haben, auch für den lebenden Organismus vollkommene Geltung haben. Diese Zerreißung der neutralen Mischung bei Adrenalintieren ist nämlich noch möglich, selbst wenn Tetanustoxin und -antitoxin vor der Injektion eine Stunde lang aufeinander eingewirkt haben, also ein Beweis, daß nach dieser Zeit die Bindung noch keine sehr feste ist. — Läßt man aber die Einwirkung des Antitoxins auf das Toxin zwei Stunden dauern, ehe man injiziert, dann tritt kein Tetanus

mehr ein, weil nach dieser Zeit die Bindung so fest geworden ist, daß die beiden Moleküle nicht mehr voneinander zu trennen sind. Es lehrt uns demnach dieser Versuch, daß tatsächlich die Avidität des Tetanusantitoxins zu dem Tetanustoxin eine relativ schwache ist. Uebersättigt man dagegen das Gemisch mit Antitoxin, so daß das Antitoxin gegenüber dem Toxin in einem bedeutenden Ueberschusse vorhanden ist, dann tritt schon kurze Zeit nach gegenseitiger Einwirkung des Gemisches bei dem Adrenalinversuch kein Tetanus mehr auf. Es ergibt sich daraus eine auch bei anderen chemischen Vorgängen bekannte Massenwirkung, d. h. daß durch Vermehrung der Anzahl der Moleküle des Antitoxins die Avidität gesteigert wird. Das wichtigste Ergebnis an dieser Versuchsreihe ist jedenfalls die Tatsache, daß ein Toxin-Antitoxingemisch innerhalb des Organismus gesprengt werden kann, so daß das Toxinmolekül nun wieder frei ist und aktionsfähig wird. Diese Tatsache ist um so wichtiger, als wir ja aus den im vorigen Abschnitte angeführten Bindungsversuchen wissen, daß das Toxin nicht nur allein zum Antitoxin, sondern auch zu gewissen Teilen lebender Zellen, den Rezeptoren, Avidität besitzt. Unter diesen Umständen ist es grundlegend wichtig, zu welchen Rezeptoren das Toxin die größere Avidität besitzt, ob zu den Gewebsrezeptoren oder zu den in dem Serum vorhandenen Rezeptoren, d. h. dem Antitoxin. Im allgemeinen muß man in dieser Hinsicht annehmen, daß die in dem Serum vorhandenen Rezeptoren, i. e. das Antitoxin, eine größere Avidität zum Toxin haben als die Gewebsrezeptoren. Denn nur so ist überhaupt die Schutzwirkung des Antitoxins gegenüber dem Toxin in vivo zu erklären. Daß dieses keine durchgehende Regel ist, sondern hier sehr verschiedene und komplizierte Verhältnisse den einzelnen Toxinen gegenüber vorliegen können, geht aus der Arbeit von Kraus & Lipschütz hervor. Diese Autoren haben an dem Beispiele verschiedener Bakterienhämolysine, Megatheriumlysin und Vibriolysin gezeigt, daß die Avidität der Organrezeptoren zu den betreffenden Toxinen größer ist als die Avidität der in den Blutkörperchen enthaltenen Rezeptoren und der im Serum vorhandenen Antitoxine.

Indessen ist die Avidität der Gewebsrezeptoren durchaus keine unabänderliche Größe, sondern sie kann durch die verschiedenartigsten Einflüsse, besonders aber durch die Intoxikation mit dem betreffenden Toxin sehr gesteigert werden. Auf diese Steigerung der Empfindlichkeit der Gewebszellen gegenüber einem Toxin hat bereits v. Behring bei der Schaffung des Begriffes der „Ueberempfindlichkeit“ hingewiesen. v. Behring hat diesen Punkt im Verein mit seinen Schülern, besonders Kitashima, eingehend bearbeitet und kommt zu folgendem Schlusse: „So paradox es klingt, nichtsdestoweniger kann ein Zweifel darüber nicht mehr existieren, daß die durch isopathische Tetanusgiftbehandlung hochimmun gewordenen Pferde eine histogene Ueberempfindlichkeit der auf das Tetanusgift reagierenden Organe besitzen.“ Besonders klar geht die Tatsache, daß die Avidität der Gewebsrezeptoren gegenüber Toxin durch die Einwirkung der Toxine gesteigert werden kann, aus der Beobachtung von Kretz hervor, die unter dem Namen des Kretzschen „paradoxen Phänomens“ bekannt ist. Kretz zeigte, daß normale Tiere auf ein gewisses äquilibriertes Toxin-Antitoxingemisch nicht reagieren, während Tiere, die vorher mit diesem Toxin aktiv

immunisiert worden waren, auf dieses gleiche Gemisch mit einer Reaktion antworten. Auch die zahlenmäßig gestützte Beobachtung von SALOMONSEN & MADSEN, daß bei einem diphtherieimmunisierten Pferde eine Toxinquantität, die durch das im Blutserum des Tieres vorhandene Antitoxin überreichlich hätte abgesättigt werden müssen, trotzdem eine Reaktion auslöste, spricht in demselben Sinne. Wenn wir uns diese Steigerungsfähigkeit der Gewebsavidität für ein Toxin im Vergleich zu der sich stets gleichbleibenden Avidität des im Serum befindlichen Antitoxins vor Augen halten, so werden uns die Befunde, daß Individuen an einem Toxin sterben können, trotzdem sie das betreffende Antitoxin reichlich in ihrem Blute haben, nicht weiter wundernehmen, ein Punkt, auf den bereits WEIGERT hingewiesen hat. Es ist deshalb nicht nötig, anläßlich solcher Befunde eine Mitwirkung des lebenden Organismus, i. e. seiner Zellen, bei der Wirkung der Antitoxine auf das Toxin anzunehmen, wie dies METSCHNIKOFF tut. Derartige Befunde, daß Tiere trotz hohen Antitoxingehaltes an der betreffenden Intoxikation zugrunde gingen, sind von BRIEGER bei einer tetanusimmunen Ziege, von v. BEHRING & KITASHIMA bei einem diphtherieimmunisierten Pferde, u. a. m. veröffentlicht worden. Dagegen lehren diese Beobachtungen jedenfalls das mit Sicherheit, daß die Gewebsimmunität durchaus nicht parallel mit dem Gehalt des Blutserums an Antitoxin einhergeht. Freilich ist es bisher nicht gelungen, in sicherer Weise die Ursache für die eintretende Immunität des Gewebes gegenüber einem Toxin, abgesehen von der Wirkung der im Serum vorhandenen Antitoxine, zu ergründen. Nach der Seitenkettentheorie müssen wir uns dieses Vorkommnis so erklären, daß infolge der im Verlaufe des Immunisierungsprozesses langdauernden Einwirkung der Toxine auf die Zellen diese ihre einpassenden Rezeptoren verloren haben, also „Rezeptorenschwund“ im Sinne EHRLICHS.

Daß ein solcher Rezeptorenschwund tatsächlich vorkommt, ist durch mehrfache Beobachtung dargetan. Von älteren Arbeiten sei auf die Veröffentlichung von EHRLICH & MORGENROTH hingewiesen, die zeigt, daß Rezeptoren für Isolysine bei Ziegen verschwinden können. KOSSEL konnte zeigen, daß beim Immunisieren von Kaninchen gegen Aaalblut die Kaninchenerythrocyten, die sonst gegenüber dem Aalbluthämolysin sehr empfindlich sind, bei hochimmunisierten Tieren der Auflösung widerstehen können. Aehnliches beobachteten CAMUS & GLEY und TCHISTOVITCH. Indessen stellen solche Gewebsresistenzsteigerungen nicht die Regel dar. JACOBY kam beim Immunisieren mit Aalblut zu anderen Resultaten wie KOSSEL.

Ein deutliches Beispiel von Rezeptorenschwund, allerdings bei Chemorezeptoren, bilden die Befunde EHRLICHS über Umbildung des Rezeptorenapparates von Trypanosomen, die bei unvollständiger Heilung mittels Arsenikalien die Rezidive hervorrufen.

Die Unabhängigkeit der Gewebsimmunität von dem Antitoxingehalt im Serum geht auch aus Beobachtungen hervor, wie sie VAILLARD machte, daß man nämlich Kaninchen mit Tetanussporen gegen Tetanusgift aktiv immunisieren kann, ohne daß Antitoxin im Blute auftritt. Auch bei der Immunisierung von Pferden gegenüber Diphtheriegift sind ähnliche Beobachtungen gemacht worden.

E. FRIEDBERGER sieht allerdings den Grund für die paradoxe Erscheinung, daß Tiere trotz hohen Gehalts an Serumantitoxin einer

kleinen Toxindose erliegen können, in echter Anaphylaxie. Diese Auffassung mag berechtigt sein. Wenn es sich allerdings beweisen ließe, daß jenes Phänomen auch auftritt, wenn zur Behandlung der Tiere nur absolut eiweißfreie Toxine dienen, müßte man sie aufgeben. Die Toxinlösungen enthalten aber alle verschiedene Mengen Eiweiß, das aus den Bakterienleibern und den Nährböden stammt und es sind also die Bedingungen zum Entstehen der Eiweißanaphylaxie gegeben. Bei dieser Annahme ist klar, daß der Gehalt des Serums an spezifischem Antitoxin irrelevant sein muß.

Für den Mechanismus der Heilung mittels Antitoxins ist nun die schon eingangs dieses Kapitels erwähnte Tatsache grundlegend wichtig. daß die Verbindung des Toxins mit seiner Gegengruppe, also auch mit dem Rezeptor der lebenden Zelle, nach jeder Zeiteinheit immer fester wird. Denn unter „Heilung“ mittels Antitoxins können wir nur den Vorgang einbegreifen, daß das bereits an die lebende Zelle gebundene Gift durch das Antitoxin noch neutralisiert wird. Daß tatsächlich die Bindung des Toxins an die lebende Zelle mit zunehmender Zeit sehr schnell eine festere wird, geht bereits aus den Versuchen von Dönitz mit Sicherheit hervor. Es wird also das Antitoxin in vivo dann das Optimum seiner Wirkung erreichen, wie dies v. Behring auseinandersetzt, wenn Toxin und Antitoxin ungefähr gleichzeitig direkt in die Blutbahn injiziert werden. Denn dann sind die optimalen Bedingungen für Resorption und für das gleichzeitige Zusammentreffen der beiden Komponenten im Blute gegeben. Diese Versuchsanordnung nähert sich in ihrer Wirkung beinahe der Mischung von Toxin und Antitoxin im Reagenzglase, bei der natürlich die direkteste und durch keinerlei Resorptionsunterschiede, Verdünnung durch Blut usw. gestörte gegenseitige Einwirkung ermöglicht ist. Dagegen wächst die Dose Antitoxin, die zur Neutralisierung des Toxins nötig ist, bedeutend, wenn man die Injektion zeitlich und örtlich getrennt voneinander ausführt. Dies ist ja nach dem bisher Auseinandergesetzten ohne weiteres klar. Im Einklang damit stellten die ersten Versuche von v. Behring & Wernicke und v. Behring & Knorr fest, daß mit jeder Zeiteinheit, die seit der Injektion und damit Bindung des Toxins verflossen ist, größere Quantitäten Antitoxins zur Heilung nötig sind. Die zur Heilung nötigen Mengen wachsen dann in geometrischer Progression, und die Möglichkeit, durch erhöhte Mengen überhaupt noch zu heilen, ist nur durch die oben erwähnte Erhöhung der Antitoxinavidität infolge Massenwirkung größerer Antitoxinmengen erklärlich. Zuletzt indessen kommt eine Grenze, sobald bei längerem Verweilen die Verbindung Toxin-Rezeptor zu fest geworden ist, bei der auch die größte Menge Antitoxins die haptophore Gruppe des Toxins nicht mehr an sich zu ziehen vermag, und damit ist dann eine Heilung mittels Antitoxins unmöglich. Es ist also die Zeit, innerhalb welcher ein Heilerfolg gegenüber einem Toxin möglich ist, vor allem abhängig davon, ob das Antitoxin noch das an die Zelle bereits verankerte Gift wieder abzuziehen und sich statt des Rezeptors an die haptophore Gruppe des Toxins zu setzen vermag. Bei dieser Analyse der antitoxischen Heilwirkung ist es klar, daß gegenüber den verschiedenen Toxinen große Verschiedenheiten der Heilerfolge mit Antitoxin bestehen müssen. Dies hat bereits Dönitz auf das genaueste gezeigt, indem seine experimentellen Heil-

erfolge bei tetanus- und diphtherievergifteten Tieren ganz verschiedene waren. Bei leichter Tetanusvergiftung konnte Dönitz die Tiere noch ca. 20 Stunden nach der Intoxikation retten, währenddem dies bei Diphtherietieren, selbst wenn die Tiere nur mit der $1^1/_2$-fach tödlichen Dosis vergiftet waren, nur mehr nach 6 bis 8 Stunden gelang. Es ist dies ohne weiteres verständlich, wenn wir nach dem oben Gesagten bedenken, daß das Diphtherietoxin eine weit stärkere Bindungsavidität als das Tetanustoxin besitzt, daß also in der gleichen Zeit das Diphtherietoxin mit seinem zugehörigen Rezeptor in der lebenden Zelle eine weit festere Verbindung eingegangen ist als das andere Gift. Kraus & Lipschütz konnten eine gleiche Verschiedenheit der Heilungsmöglichkeiten für verschiedene Bakterienhämolysine nachweisen. Mit Recht sagen daher die genannten Autoren, daß für die Heilung mittels Antitoxins maßgebend sei die Avidität des Giftes und weiterhin die Toxizität, i. e. Wirkung auf die Zelle, also wie rasch die Zelle von der toxophoren Gruppe zerstört wird. Daß in der Tat bereits an die Zelle gebundene Toxine von nachträglich injiziertem Antitoxin noch neutralisiert werden können, zeigen außer den bereits erwähnten Versuchen von Dönitz sowie Heymanns besonders überzeugend die in vitro angestellten Heilversuche an roten Blutkörperchen, welche mit Toxinen versetzt waren. — Wir nennen hier die Experimente von Madsen am Tetanolysin, von Rehns mit Ricin, von Kraus & Lipschütz an roten Blutkörperchen, die mit Vibriolysin, Staphylolysin und Tetanolysin vergiftet worden waren. Alle diese Versuche, die sog. „Heilversuche im Reagenzglase", demonstrieren, daß eine gewisse Zeit, nachdem das Toxin bereits an die roten Blutkörperchen gebunden worden war, es durch das betreffende Antitoxin den Blutkörperchen noch wieder entzogen werden kann.

R. Kraus & Amiradzibi stellten interessante Versuche über die Frage an, ob die Bindung von Toxin und Antitoxin innerhalb oder außerhalb der Zelle stattfindet. Sie untersuchten das Antilysin von Vibrionen und fanden, daß dieses Antitoxin weder in intakte noch in mit Serum vorbehandelte Blutkörperchen einzudringen vermag. Sie nehmen an, daß das Toxin aus den Zellen heraustritt und dann die Bindung zustande kommt. Kraus & Amiradzibi zeigen in Dialyseversuchen ferner, daß Toxin, welches in Schilfröhrchen eingeschlossen in Antitoxinlösung gestellt wird, aus den Röhrchen in viel kürzerer Zeit verschwindet, wie in einer physiologischen Kochsalzlösung.

Die Heilung mit Antitoxin ist nach alledem ein Neutralisieren von Toxin, das bereits an die empfängliche Zelle gebunden ist, währenddem das Immunisieren mit Antitoxin ein Neutralisieren noch frei kreisender Toxinmoleküle darstellt. — Speziell für Diphtherie- und Tetanustoxin sind die im Tierexperimente zur Heilung nötigen Mengen des Antitoxins sowie die Heilungsbedingungen vornehmlich durch v. Behring und seine Schüler, Knorr, Ransom und Kitashima zahlenmäßig genau festgestellt worden.

Ueber die Frage, ob der Heilwert der antitoxischen Sera parallel mit ihrem Antitoxingehalt geht, drohten in neuester Zeit, nachdem die Debatte hierüber längst geschlossen war, wiederum Differenzen aufzutauchen. Kraus & Schwoner glaubten festgestellt zu haben, daß Sera mit hohem Antitoxingehalt in ihrer Heilwirkung geringwertigeren Seris unterlegen seien. Berghaus

zeigte dagegen, daß sich die Resultate von Kraus & Schwoner durch die Verwendung anderer Versuchstiere und den Modus der Serumapplikation erklärten. Bei Verwendung von Meerschweinchen, die stets das gleiche Gewicht hatten und sowohl Toxin wie Serum stets auf demselben Weg zugeführt erhielten, zeigten auch die von Kraus & Schwoner gebrauchten Sera vollkommenen Parallelismus zwischen Antitoxingehalt und Heilwirkung. Auch Neufeld und Haendel kamen zu den gleichen Ergebnissen.

Wenn wir somit den Schluß aus dem in diesem Kapitel Gesagten für die praktische antitoxische Serumtherapie ziehen, so ergibt sich, daß man diese Therapie möglichst frühzeitig einleiten, das Antitoxin wegen der erwähnten Massenwirkung reichlich, und zwar auf einmal, d. h. nicht verzettelt, verabreichen soll.

Eigenschaften und chemisches Verhalten der Antitoxine.

Die Haupteigenschaft der Antitoxine, ihre Spezifizität, wurde bereits eingangs erwähnt. Indessen müssen wir hier darauf hinweisen, daß im Ehrlichschen Sinne ein aktiver Stoff im Serum und damit auch ein Antitoxin nur dann streng spezifisch, d. h. nur auf eine einzige Substanz wirksam ist, wenn diese Substanz mit keiner anderen irgendwelche gemeinsamen Rezeptoren besitzt. Haben dagegen zwei Gifte gemeinsame Rezeptoren, dann ist es möglich, daß ein Antitoxin auch auf beide eine Wirkung ausübt. Dies wird besonders dann der Fall sein, wenn es sich um Toxine handelt, die schon ihrer ganzen Wirkung nach sich nahestehen, wie z. B. Schlangen- und Skorpionengift. Unter diesen Umständen wird es nun nicht wundern, wenn das Schlangengiftantitoxin auch auf das Skorpionengift eine gewisse Wirkung ausübt, wie dies Calmette sowie Metschnikoff angeben. Auch Robin und Ricin verhalten sich derart. Wir wollen indessen nicht verfehlen, hervorzuheben, daß ein derartiges Uebergreifen von Antitoxin auf ein andersartiges Toxin sehr selten ist und daß die meisten anderen Fälle, in denen dies beschrieben wurde, sich als nicht stichhaltig herausgestellt haben.

Daß die Spezifizität der Antitoxine manchmal sogar auf das denkbar feinste differenziert ist, konnte J. Leuchs am Beispiel des Botulismusantitoxins zeigen. Stellt man mit Toxin aus zwei verschiedenen Botulismusstämmen das Antitoxin her, so wirkt jedes Antitoxin nur auf das zugehörige Toxin ein, vermag aber das andere, obwohl es ebenfalls echtes Botulismustoxin ist, nicht zu neutralisieren. Ueber den feineren Bau der Antitoxine wissen wir sehr wenig. Nach Ehrlich müssen wir uns die Antitoxine als Rezeptoren erster Ordnung, d. h. nur mit einer haptophoren Gruppe begabt, vorstellen. Wechsberg nimmt an, daß das Diphtherieantitoxin entsprechend, wie wir dies von den Ambozeptoren und den Agglutininen wissen, aus einzelnen Partialantitoxinen sich zusammensetze. Die gleiche Ansicht haben auf Grund ihrer Versuche Volk & Lipschütz für das Staphylolysin resp. Antistaphylolysin. — Auch betreffs der chemischen Struktur der Antitoxine sind unsere positiven Kenntnisse äußerst gering, die chemische Natur der Antitoxine ist unbekannt. Es ist möglich, daß sie Eiweißstoffe sind, aber dies ist

nicht sicher entschieden. Gegen diese Ansicht spricht, daß sie gegen Trypsin (s. unten) eine beträchtliche Widerstandskraft besitzen. Dagegen sind sie gegenüber der bei Säure verlaufenden Pepsinverdauung sehr empfindlich. Jedenfalls handelt es sich bei den Antitoxinen um sehr große Moleküle von kolloidaler Beschaffenheit. Dies geht bereits daraus hervor, daß sie von engen Bakterienfiltern zurückgehalten werden (di Martini & Cobbett). Die Antitoxine gehören zu den leicht zerstörbaren Substanzen, doch sind sie im allgemeinen widerstandsfähiger als die meisten Toxine, z. B. das Diphtherie- und Tetanustoxin. Durch Siedehitze wird ein Antitoxin sehr rasch zerstört, schon bei 60—70° tritt eine Schädigung ein. In vollständig trockenem Zustand dagegen vertragen Antitoxine nach Camus eine halbstündige Erwärmung auf 110° und eine viertelstündige auf 140°. Gegen tiefere Temperaturen sind Antitoxine nicht empfindlich (Bujvid). Direktes Licht und der Sauerstoff der Luft wirken zerstörend auf dieselben (Palmirski & Orlowski). Müller gibt an, daß gelbes und rotes Licht selbst bei monatelanger Einwirkung unschädlich, dagegen blaues und grünes Licht sehr schädlich seien. Ebenso wirken nach diesem Autor alle Gase bei längerer Einwirkung schädlich.

Nach v. Baroni & Jonesco-Mikaiesti werden die Antitoxine durch die Einwirkung von ultravioletten Strahlen zerstört. W. Hausmann & E. Pribram zeigten, daß die Galle bei Belichtung durch photodynamische Wirkung Toxine und Antitoxine zerstören kann; doch sind auch hierbei die Antitoxine widerstandsfähiger. Säuren, besonders Salzsäure, zerstören, wie schon erwähnt, die Antitoxine sehr rasch. Am konstantesten hält sich daher antitoxisches Serum, wenn es im Vakuum kühl und dunkel aufbewahrt wird. In dieser Art und Weise werden nach Ehrlich die Standardsera für die staatliche Kontrolle konserviert.

v. Fedorow & Ikonikoff wiesen nach, daß Tetanusantitoxin, unter den obigen Kautelen aufbewahrt, selbst noch nach 15 Jahren seine spezifische Wirksamkeit unverändert beibehalten hat. Indessen dürfte ein solches Verhalten nicht die Regel sein. Mit der Zeit verlieren auch die sorgfältigst aufbewahrten Sera immer mehr von ihren wirksamen Kräften.

Die Versuche zur chemischen Konzentrierung der Antitoxine im Serum und der Milch sind sehr zahlreich. Schon bald nach der Behringschen Entdeckung beschäftigte man sich mit dieser Frage. Was zunächst die Konzentrierung des Diphtherieantitoxins angeht, so gewannen Brieger & Ehrlich trockene Antitoxinpräparate aus der Milch diphtherieimmuner Ziegen mittels Ammoniumsulfatfällung. Das Präparat war 400—600mal so wirksam, als die Originalmilch und enthielt 14 Proz. Ammoniumsulfat. A. v. Wassermann hat die Methode etwas modifiziert. Er stellt sich zunächst aus der diphtherieantitoxinhaltigen Milch eine klare Molke dar. Zu diesem Behufe wird die Milch mit ca. 20 ccm Normalsalzsäure per Liter versetzt, möglichst schnell durch Labferment im Brutschrank zum Gerinnen gebracht und die Molke abfiltriert. Die noch trübe Molke wird nun kräftig mit Chloroform geschüttelt und dann die klare Flüssigkeit von dem Chloroformbodensatz dekantiert. Zu dieser klaren Molke werden nun 30—33 Proz. Ammoniumsulfat hinzugesetzt, der entstehende Niederschlag auf Ton getrocknet, von dem auskristallisierten Ammoniumsulfat getrennt und im Wasser gelöst. Aronson verwendete zur Gewinnung festen Diphtherieantitoxins Aluminiumsulfat. Brieger & Boer verwendeten Chlorkalium und Chlornatrium zum Ausfällen des Diphtherieantitoxins aus Serum. Ferner versuchten Brieger & Boer durch Fällung mit Schwermetallsalzen

das Diphtherieantitoxin in konzentrierter fester Form zu gewinnen. Besonders Zinksalze erwiesen sich ihnen als geeignet. Sie wollen mit beiden Methoden eine quantitative gute Ausbeute erhalten haben. Fast alle die bisher genannten Methoden beruhen im wesentlichen darauf, daß die im Serum oder in der Molke enthaltenen Eiweißkörper ausgefällt werden und dadurch das Antitoxin mit niederreißen. Eine eigentliche Isolierung des Antitoxins kommt bei diesen Methoden nicht zustande. Am meisten leistet in dieser Beziehung noch die zuletzt genannte, von Brieger & Boer angegebene Methode der Zinkverbindung. Freund & Sternberg haben deshalb weiterhin versucht, das Diphtherieantitoxin von den anderen im Serum enthaltenen Stoffen möglichst zu isolieren. Das Serum wird zu 33 Proz. seines Volumens mit 5-proz. Kaliumalaunlösung versetzt. Es fallen dabei die Albumine aus, während das Antitoxin in der Lösung bleibt. Nach Abfiltrieren wird die Lösung dialysiert. Aus dem Dialysat werden die Globuline und mit diesen das Antitoxin durch halbe Sättigung mit Ammoniumsulfat ausgeschieden und wieder mit halb gesättigter Ammoniumsulfatlösung gewaschen. Dann wird der Niederschlag dialysiert, im Vakuum eingeengt und filtriert. Nach Angabe der Autoren soll die Methode sehr gute Resultate ergeben. Astros & Rietsch verdünnen das Serum auf das Fünffache, setzen so viel Chlornatrium und Chlorkalium zu, daß die Lösung 20-proz. wird, und lassen bei 33° unter Zusatz von 5 Proz. Phenol 24 Stunden stehen. Nach Angabe der Autoren soll die Methode quantitativ arbeiten. Pröscher will durch Trypsinverdauung das Antitoxin von den normalen im Serum vorkommenden Eiweißkörpern getrennt haben. Brunner & Pinkus stellten das Antitoxin derartig „rein" dar, daß sie das auf 32° erwärmte Serum bis zu 20 Proz. mit Na_2SO_4 versetzten und so die Antitoxine ausfällten. Dzerzgowski & Predtetschensky brachten die Albumine und den in destilliertem Wasser unlöslichen Teil der Globuline durch konzentrierte Ammonsulfatlösung zur Fällung, reinigten der Niederschlag durch Dialyse und erhielten so Trockenantitoxin. Zur Verhütung der Anaphylaxie bei wiederholter Serumanwendung stellte v. Behring in neuester Zeit ein gereinigtes sog. „atoxisches" Heilserum dar, in welchem der größte Teil der Eiweißkörper ausgefällt, die Antitoxine jedoch erhalten sein sollen.

Die schon von Brieger & Ehrlich zur Isolierung des Diphtherieantitoxins verwendete Ammoniumsulfatfällung wurde seitdem quantitativ nach den Hofmeisterschen Methoden eingehend studiert. Besonders suchte man dabei die Frage zu lösen, ob das Antitoxin ein Eiweißkörper ist oder ob es an einen bestimmten Eiweißkörper des Blutes gebunden ist. Manche der bereits angeführten Arbeiten sprechen dagegen, daß das Antitoxin ein Eiweißkörper sei, so z. B. die Angabe von Brieger & Boer, daß das Antitoxin mit kohlensaurem Zink nur dann mitgerissen wird, wenn es vorher durch Zinksulfat gefällt war, nicht aber, wenn Zinkchlorid benutzt wurde; weiterhin der Nachweis von Freund & Sternberg (l. c.), daß durch Kaliumalaun, das alle Albumine herausfällt, das Antitoxin nicht mit ausgefällt wird; endlich die Angabe von Pröscher, der durch Einwirkung des Trypsins ein Diphtherieantitoxin gewonnen haben will, das keinerlei Eiweißreaktion mehr zeigt. Indessen ist die Frage über die Eiweiß- oder Nichteiweißnatur des Diphtherieantitoxins noch nicht sicher entschieden. Wohl aber ist die andere Frage, an welche Eiweißkörper des Serums das Antitoxin gebunden ist, in sicherer Weise zugunsten der Globuline gelöst. Nachdem frühere Autoren Belfanti & Carbone, Smirnow, Dieudonné widersprechende Angaben über das Mitfällen des Antitoxins mit den Globulinen gemacht hatten, wurde die Rolle der Globuline durch eine Arbeit von Seng geklärt. Seng konnte zeigen, daß es im Heilserum ebenso wie im normalen Serum nach Marcus zwei Arten von Globulinen gibt, nämlich unlösliche Globuline, die durch Essigsäure, Kohlensäure, Verdünnung mit Wasser und Dialyse fällbar sind, während eine zweite Kategorie, die löslichen Globuline, nur durch die übrigen

Globulinreagentien, besonders durch Ammonium- und Magnesiumsulfat gefällt werden. — Das Antitoxin ist ausschließlich an diese löslichen Globuline gebunden, so daß es also bei der Fällung durch Dialyse im Filtrat bleibt. Nach den Arbeiten von Hofmeister und seinen Schülern werden bekanntlich drei verschiedene Arten von Globulinen mittels fraktionierter Ausfällung von Ammoniumsulfat unterschieden, das Fibrinoglobulin, die Euglobuline und die Pseudoglobuline. Diese letzteren entsprechen den löslichen Globulinen von Marcus sowie Seng. Pick konnte nun nachweisen, daß man durch zirka ein Drittel Sättigung mit Ammoniumsulfat einen Teil der Globuline, die Fibrinoglobuline, ausfällen kann, ohne daß das Antitoxin mit ausfällt. Dieses letztere fällt erst aus bei einem Zusatz von 38 bis 46 Proz. Ammoniumsulfats. Beim Immunserum, das vom Pferde stammt, war das Antitoxin an das Pseudoglobulin gebunden, bei dem von Ziegen an das Euglobulin.

Zur Konzentrierung des Tetanusantitoxins sind im allgemeinen dieselben Methoden verwendet worden, wie wir sie beim Diphtherieantitoxin kennen gelernt haben. Brieger & Cohn bedienten sich zur Konzentrierung des Tetanusantitoxins aus der Molke immuner Tiere des Zusatzes von 32 Proz. Ammoniumsulfat. Der Niederschlag wird aufgelöst, mit basischem Bleiacetat gefällt und gewaschen. Filtrat und Waschwasser werden mit Ammoniumsulfat gesättigt und der Niederschlag durch Aufschlemmen in reinem Chloroform mechanisch von dem überschüssigen festen Ammoniumsulfat getrennt. Es ließ sich eine Konzentrierung auf das 300—400-fache erzielen.

Um die Ausbeute an Tetanusantitoxin ergiebiger zu gestalten, baute Frouin eine Methode aus, um neben dem Serum auch aus dem koagulierten Blut das Antitoxin zu gewinnen.

Pick konnte für das Tetanustoxin, ebenso wie es für das Diphtherieantitoxin erwähnt wurde, zeigen, daß es an die Globuline gebunden ist, und zwar im Pferdeserum ausschließlich an das Pseudoglobulin. Uebrigens haben bereits Tizzoni & Cattani beobachtet, daß das Tetanusantitoxin nur an die durch festes Magnesiumsulfat gefällten Globuline gebunden ist. Das Tetanusantitoxin wird bei 68° zum größten Teil zerstört, Säuren wirken ebenfalls zerstörend, desgleichen stärkere Alkalien. Das Tetanusantitoxin dialysiert nicht. Die Versuche Jacobis über Isolierung und Konzentrierung des Antiricins mittels Aussalzens durch Ammoniumsulfat zeigten, daß das Antiricin in die Fraktion übergeht, die bei $^1/_4$ bis $^1/_3$ Sättigung mit Ammoniumsulfat ausfällt. Gegenüber Trypsin und in anderen Beziehungen verhält sich das Antiricin ebenso, wie wir soeben vom Diphtherie- und Tetanusantitoxin kennen gelernt haben.

Alle diese Versuche, auf chemischem Wege die Antitoxine zu konzentrieren oder rein darzustellen, haben, seitdem es gelungen ist, genügend hochwertige Sera darzustellen, ihre praktische Bedeutung eingebüßt.

Wertvoll dagegen ist die schon oben erwähnte Darstellung eines gereinigten Antitoxins nach v. Behring. Durch Fällung des Heilserums mit Magnesiumsulfat und Ammonsulfat erhielt v. Behring ein Serum, in dem im wesentlichen nur „Paralbumine“, d. h. wasserlösliche Proteine, welche das Antitoxin enthalten, vorkommen, und welches keine anaphylaktischen Symptome beim Menschen auslöst.

Vorkommen von Antitoxinen im Serum normaler Tiere.

Bereits oben wurde erwähnt, daß wir im normalen Serum verschiedener Tiere die mannigfaltigsten Antitoxine und Antifermente finden können. Diese Tatsache wurde schon an dieser Stelle als ein Beweis dafür angeführt, daß die Antitoxine nicht etwa Modifikationsprodukte der injizierten Gifte, sondern Produkte einer bestimmten, und zwar in geringem Grade bereits der normalen Zelltätigkeit sind. Die Erklärung gerade dieser normalen Vorgänge bildet einen der Hauptpunkte der Ehrlichschen Seitenkettentheorie. Denn Ehrlich nimmt ja an, daß die Rezeptoren für den Haushalt des Organismus überhaupt eine viel allgemeinere Bedeutung haben als nur die Verankerung bestimmter Toxine. Er glaubt, daß sie der allgemeinen Zellernährung dienen und daß nur zufällig einmal gewisse Bakterientoxine auf einen solchen Rezeptor einpassen und damit für die Zelle giftig werden. Von diesem Gedankengang ausgehend würde es also nichts Ueberraschendes bieten, daß solche Rezeptoren, d. h. Antitoxine, auch unter anderen Umständen, als nur unter der Einwirkung der Toxine, von den Zellen abgespalten werden und im Serum auftreten. Zum ersten Male wurde das Auftreten von Antitoxinen im normalen Serum des Menschen von A. v. Wassermann nachgewiesen. Es wurde damals gezeigt, daß im Blutserum bei ca. 60 Proz. Kindern und 85 Proz. aller erwachsenen Menschen, so daß wir wohl sagen können, bei allen normalen Erwachsenen, auch ohne daß sie nachweisbar Diphtherie überstanden haben, Diphtherieantitoxin im Serum vorhanden ist. Dieser Befund wurde von Abel, Fischel & Wunschheim, Orlowski, Römer, Uffenheimer (s. Kap. Wesen der Infektion) bestätigt. Entsprechend der Tatsache, daß die im Serum vorhandenen Antitoxine auch in die Milch übergehen, konnte bei einem entsprechenden Prozentsatz normaler Frauen in der Milch Antitoxin nachgewiesen werden. Auch im Blutserum von ca. 30 Proz. der untersuchten Pferde konnten Meade Bolton & Cobbett beträchtliche Mengen von Diphtherieantitoxin auffinden. Ehrlich fand, daß das normale Pferdeserum ein Antitoxin gegenüber dem Tetanolysin enthält. Römer berichtet, daß bei dem dritten Teil der untersuchten Rinder Tetanusantitoxin im Blute zu finden war. Kraus konnte feststellen, daß im normalen Pferdeserum Antitoxine gegenüber einer Reihe von Bakterienhämolysinen vorkommen. Neisser & Wechsberg fanden im normalen menschlichen Serum ein Antitoxin gegenüber dem Staphylolysin, Kraus im normalen Serum von Ziegen und Pferden ein Antitoxin gegenüber dem Lysin des Vibrio Nasik. Auch gegenüber Fermenten wurden im normalen Blutserum Antifermente nachgewiesen. So zeigte Landsteiner, daß im normalen Kaninchen-, Meerschweinchen-, Rinderserum ein Antitrypsin vorkommt, Morgenroth das Vorhandensein eines Antifermentes gegenüber Lab und Cynarase im normalen Ziegen- und Pferdeserum.

Neisser bewies, daß, wenn ein normales Serum gleichzeitig auf verschiedene Toxine neutralisierend wirkt, in einem solchen Serum eine Reihe spezifisch wirkender einzelner Antitoxine nebeneinander vorhanden ist. Ob die in vitro sich geltend machende antitoxische Wirkung der normalen Galle gegenüber Schlangengift (Calmette) als eine echte antitoxische aufzufassen ist, oder ob nicht vielmehr die Galle das Schlangengift direkt zerstört, ist noch nicht sicher ent-

schieden. Dasselbe gilt für die antitoxische Funktion des Nebennierenextraktes gegenüber dem gleichen Gifte, wie dies Myers beschreibt. Bei diesem kommt vielleicht die gefäßverengernde und resorptionsbehindernde Wirkung des Nebennierenextraktes hinzu. Dagegen konnten Kraus & Lipschütz in den Organen normaler Tiere echte, lösliche Antitoxine gegenüber Bakteriolysinen nachweisen.

Was das Auftreten von Antitoxinen nach spontanem Ueberstehen gewisser Infektionen betrifft, so konnten solche nur bei Diphtherierekonvaleszenten in sicherer Weise nachgewiesen werden (Klemensiewicz & Escherich, fernerhin Abel und Orlowski). Indessen verliert der Befund von Diphtherieantitoxin bei Dipththerierekonvaleszenten deshalb an Wert, weil, wie wir soeben sahen, bereits die größte Anzahl der normalen Kinder Diphtherieantitoxin in ihrem Serum besitzen. Bei Tetanusrekonvaleszenten konnte überhaupt bisher mit Sicherheit das Auftreten von Antitoxin nach spontanem Ueberstehen der Krankheit nicht nachgewiesen werden.

Wenden wir uns nunmehr der Frage zu, woher die normalerweise im Serum vorkommenden Antitoxine stammen, so ist es klar, daß ihre Quelle nur die Organe sein können, daß sie also von diesen in das Serum abgegeben werden. Ein experimenteller Beweis für diese Ansicht liegt aber nur seitens Kraus & Lipschütz vor, die nachweisen konnten, daß in den Extrakten von normalen Organen sich die Antitoxine gegenüber gewissen Bakteriolysinen reichlicher finden als im Blutserum.

Die Frage, ob die im normalen Serum vorkommenden Antitoxine von den immunisatorisch gewonnenen verschieden sind, ist bisher nur wenig bearbeitet worden. Nur Kraus konnte nachweisen, daß das im normalen Ziegen- oder Pferdeserum vorkommende Antitoxin gegenüber dem Vibriolysin, dieses nicht sofort, sondern erst, nachdem es eine Stunde lang bei 37° auf das Toxin eingewirkt hatte, zu binden und zu neutralisieren vermag. Im Gegensatze wirkt nach Kraus das durch Immunisierung gewonnene Antivibriolysin sofort. Es besitzt demnach das immunisatorisch gewonnene Antitoxin, aber, wie gesagt, nur in diesem speziellen Falle, eine stärkere Avidität zu dem Gift als das im normalen Serum vorkommende Antitoxin. Das Immunantitoxin kann sich abschwächen und gewinnt dann den Typus des im normalen Serum vorhandenen Antivibriolysins. A. v. Wassermann hat Versuche darüber angestellt, ob sich das im normalen Serum des Menschen vorkommende Diphtherieantitoxin von dem immunisatorisch gewonnenen in irgendeiner Weise unterscheidet. A. v. Wassermann strebte die Lösung dieser Frage auf zweierlei Weise an. — Erstlich, indem versucht wurde, durch Injektion normalen, antitoxinhaltigen Menschenserums beim Meerschweinchen ein Anti-Antitoxin zu erzeugen und nun zu sehen, ob dieses Anti-Antitoxin dann sowohl das normale wie das immunisatorisch gewonnene Antitoxin zu neutralisieren vermag. Indessen ist die Gewinnung eines Anti-Antitoxins entsprechend den oben angeführten Versuchen von Kraus & Eisenberg nicht gelungen. Weiterhin versuchte A. v. Wassermann, ob vielleicht die Wirkung des normalen Diphtherieantitoxins eine qualitativ andere sei wie die des immunisatorisch gewonnenen. Es war denkbar, daß das im normalen Serum sich findende Diphtherieantitoxin nichts weiter als eine im Serum vorhandene fermentartige

Substanz sei, die vielleicht die toxophore Gruppe des Diphtheriegiftes zerstört. Etwas ähnliches ist von einem französischen Autor betreffs des antitoxischen Wirkung des Saftes einer Schnecke beschrieben worden. Indessen konnte A. v. Wassermann durch partielle Absättigung von Diphtherietoxin mit normalem Menschenserum und nachträglicher Hinzufügung von immunisatorisch gewonnenem Diphtherieantitoxin nachweisen, daß die beiden Antitoxine in ihrer Wirkung sich quantitativ summieren, so daß also die Wirkung qualitativ die gleiche zu sein scheint. Auch die Zerstörungstemperatur der antitoxischen Wirkung des normalen und des Diphtherieimmunserums ist die gleiche. Es lassen sich demnach keine Unterschiede zwischen dem im normalen und im Immunserum vorkommenden Diphtherieantitoxin auffinden.

Verweilen der Antitoxine im Organismus.

Die Ausscheidung der Antitoxine, die ja im Hinblick auf die Dauer der passiven Immunität praktisch sehr wichtig ist, wurde von vorneherein eingehend studiert. Schon Knorr beschäftigte sich bei dem Tetanusantitoxin mit dieser Frage. Er konnte zeigen, daß von einer bestimmten injizierten Menge Tetanusantitoxin nach sechs Tagen nur mehr $^1/_3$, nach 19 Tagen nur mehr $^1/_{1000000}$ und nach 21 Tagen überhaupt nichts mehr im Organismus nachzuweisen war. Auch Tizzoni & Cattani kommen zu dem Schlusse, daß das Tetanusantitoxin sehr rasch aus der Blutbahn und aus dem Organismus verschwindet. Ebenso geben Vagedes & Nocard an, daß das Tetanusantitoxin höchstens 4 Wochen im Organismus aufzufinden ist. Bei Verwendung der Methode des Antitoxinnachweises durch intrakutane Toxininjektion konnte P. H. Römer und Th. Sames nachweisen, daß Tetanusantitoxin nach subkutaner Injektion oder nach Darreichung mit der Muttermilch noch nach 6 Monaten in geringster Menge festzustellen war.

Zu ähnlichen Resultaten kamen die Autoren, welche über die Ausscheidung des Diphtherieantitoxins arbeiteten. Nach Passini ist das Diphtherieantitoxin bei Menschen und Tieren bereits nach 11—12 Tagen nicht mehr nachzuweisen. Bomstein stellte in betreff dieser Frage quantitative Untersuchungen an Hunden und Meerschweinchen an. Er konnte nach 24 Stunden nur mehr die Hälfte, nach 15—18 Tagen überhaupt nichts mehr vom Antitoxin finden. Uebereinstimmende Resultate erhielt E. Müller mit Diphtherieserum am Menschen. Kraus & Joachim zeigten durch sorgfältige Untersuchungen an Kaninchen, daß bereits nach einer Stunde große Verluste von Diphtherieantitoxin im Serum zu verzeichnen sind. Nach Maldaque verschwinden auch Staphylokokkenantitoxine (Antileukozidin und Antistaphylolysin) sehr rasch aus dem Blute. Dabei walten nach diesen Autoren bedeutende individuelle und nach den Untersuchungen von v. Behring auch bedeutende Unterschiede nach der Species der Tiere vor. Im allgemeinen läßt sich das Gesetz aufstellen, daß sehr bald nach der Injektion eine sehr starke Einbuße in dem berechneten Antitoxingehalt eintritt und daß dann die Ausscheidung, allmählich langsamer abfallend, vorschreitet, bis sich nichts mehr nachweisen läßt. — Fragen wir uns, auf welche Weise dieses rasche Verschwinden der in das Blut injizierten Antitoxine aus

dem Blutgefäßsystem zustande kommt, so müssen wir hier in erster Linie an eine Ausscheidung durch die Exkretionsorgane denken. In der Tat konnten bereits Vagedes und v. Behring & Kitashima zeigen, daß sich bei Mensch und Tier, denen wir Antitoxin injizieren, dasselbe sehr bald im Urin und Darminhalt nachweisen läßt. Indessen ist die dortselbst aufzufindende Menge doch nicht so groß, als daß diese Ausscheidung allein uns das so rasche Verschwinden des Antitoxins völlig erklären könnte. — Vielmehr müssen wir noch daran denken, daß ein Teil des Antitoxins in den Organen zurückgehalten resp. gebunden wird. Dieser letzteren Ansicht ist R. Pfeiffer, Pfeiffer & Friedberger konnten nämlich zeigen, daß man durch Injektion von Choleraimmunserum, das von Ziegen stammte, bei Kaninchen einen Antiimmunkörper erzielen kann, daß also das von einer fremden Tierspecies herrührende Immunserum an gewisse Organe verankert und zur Bereitung eines Antiimmunserums verarbeitet wird. Dementsprechend könnte man annehmen, daß etwas Derartiges auch für die Antitoxine gilt, daß also ein Teil des von einer fremden Tierspecies stammenden Antitoxins sofort nach der Injektion an gewisse Zellen gebunden wird und so ein Antiantitoxin entsteht. In der Tat würden für diese Ansicht die Experimente von v. Behring und Ransom & Kitashima sprechen. Diese Autoren konnten zeigen, daß, wenn man normalen Pferden ihr homologes Tetanusantitoxin, also tetanusantitoxisches Pferdeserum injiziert, die Antitoxine sich dann sehr lange, bis zu 80 Tagen, nachweisen lassen, fast so lange, wie das Antitoxin bei einem Pferde, das aktiv immunisiert wurde.

Auch die Erfahrungen von Kolle & Turner über die lange Dauer des Schutzes gegen Rinderpest bei Rindern, die mit Rinderimmunserum, also mit homologem Immunserum geimpft wurden, würden dafür zu verwerten sein. Indessen zeigen die Versuche von Jörgensen & Madsen sowie die Arbeit von Schütze, daß dieses längere Verweilen von homologem Immunserum im Organismus nicht für alle Tierarten und für alle Sera zutrifft. Wir sind also nicht berechtigt, den Befund von v. Behring und seinen Schülern mit Tetanusantitoxin an Pferden für alle Antitoxine und alle Tierarten und besonders den Menschen ohne weiteres zu verallgemeinern. Allerdings geht aus allen Arbeiten übereinstimmend hervor, daß das homologe Antitoxin sich länger im Organismus hält als das heterologe. Daß aber insbesondere beim Diphtherieantitoxin das rasche Verschwinden aus der Blutbahn nicht etwa darauf beruht, daß das von einer fremden Species, also gewöhnlich von Pferden stammende Antitoxin in den Organen etwa zwecks Bildung von Anti-Antitoxin verankert wird, konnten Kraus & Eisenberg und in ausführlicherer Weise Kraus & Joachim nachweisen. In beiden Arbeiten kommen die Autoren auf Grund ihrer Versuche zu dem Schlusse, daß weder im Serum der mit heterologem Diphtherieantitoxin vorbehandelten Tiere noch in deren Organen irgendwelche Anzeichen sich finden, welche auf die Bildung von Anti-Antitoxin, also im Sinne der oben erwähnten Pfeiffer-Friedbergerschen Antiimmunkörper hindeuten. Auch Fonteyne konnte keine Anti-Antitoxine nachweisen. Wir müssen daher sagen, daß die Frage nach den Ursachen und den Wegen des raschen Verschwindens der Antitoxine aus der Blutbahn nach Seruminjektion noch nicht endgültig geklärt ist.

Literatur.

Abel, Deutsche med. Wochenschr., 1894.
[1] Arrhenius & Madsen, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 46, 1903.
[2] — — Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1903.
[3] — — Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1903 und 1904.
[4] — — Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 44, H. 7.

Arrhenius, Svante, Immunochemie, Leipzig 1907.
[1] Aronsohn, Berl. klin. Wochenschr., 1894.
[2] — Berl. klin. Wochenschr., 1912.

Ascoli, Grundriß der Serologie. Wien und Leipzig, Josef Safar, 1912, S. 141.
Astros & Bietsch, Compt. rend. soc. Biol., 1900.
Babes, Bull. de l'acad. méd., 1895.
Bail, Arch. f. Hyg., 1897.
Baroni, V., & Jonesco-Mikaiesti, Compt. rend. soc. Biol., T. 68, 1910.
Bang, Ivar, & Forssman, Münch. med. Wochenschr., 1909, S. 1769.
Bashford, Arch. internat. de pharmacodynamie, T. 8 et 9.
Belfanti & Carbone, Ref. Centralbl. f. Bakt., 1898.
[1] v. Behring, Allg. Therapie der Infektionskrankh., Teil I, S. 1033.
[2] — Blutserum-Therapie II. Leipzig, Georg Thieme.
[3] — Deutsche med. Wochenschr., 1893.
[4] — Infektionskrankheiten. Berlin, Hirschwald, 1912.

v. Behring & Wernicke, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 12.
[1] v. Behring & Knorr, Zeitschr. f. Hyg., 1893.
[2] — — Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 13.

v. Behring & Kitasato, Deutsche med. Wochenschr., 1890.
Bessau, Ueber die Dysenteriegifte und ihre Antikörper. Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 57, 1911.

Biltz, Much & Siebert, Beiträge zur experimentellen Therapie, 1905.
v. Behring & Kitashima, Berl. klin. Wochenschr., 1901.
[1] Blumenthal, Deutsche med. Wochenschr., 1898.
[2] — Berl. klin. Wochenschr., 1908, Nr. 26.
[1] Bomstein, Centralbl. f. Bakt., 1898.
[2] — Centralbl. f. Bakt., 1897.
[1] Bordet, Le mécanisme de l'agglut. Ann. Pasteur, T. 13, 225, 1899.
[2] — Sur le mode d'action des antitox. sur les tox. Ann. Pasteur, T. 17, 161, 1903.

[3] — Ueber die Wirkungsweise der aktiven Substanzen im Blutserum. Kongreßreferat, Budapest 1909; Centralbl. f. Bakt., Bd. 45, 417.

[4] — Verhandlungen des internationalen Kongresses für Hygiene und Demographie, Brüssel 1903.

[5] — Ann. Pasteur, 1903.

Briot, Journal de physiol. et patholog., 1903.
Brieger, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., 1895.
Brieger & Boer, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 21.
Brieger & Cohn, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., 1893.
Brieger & Ehrlich, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 13.
Brunner & Pinkus, Beiträge zur Reindarstellung der Antitoxine. Biochem. Zeitschr., Bd. 5, 1907.

Bruck, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., 1904.
[1] Buchner, Münch. med. Wochenschr., 1893.
[2] — Deutsche med. Wochenschr., 1894.
Bujvid, Centralbl. f. Bakt., 1897.
[1] Calmette, Ann. Pasteur, 1895.
[2] — Ann. Pasteur, 1898.

Calmette & Massol, Relations entre le venin de cobra et son antitoxine. Ann. Pasteur, T. 21, 1907.

Calmette, A., Upon the mechanism of the neutralization of cobra venom by its antitox. Journ. of medic. research., Vol. 27, p. 47, 1909.

Camus, Compt. rend. soc. Biol., 1898.
Camus & Gley, Arch. internat. de pharmacodynamie, 1899.

Mc.Clintok, Charles T., & King, Walter E., The oral administration of antitox. Journ. of infect. diseas., Vol. 6, Nr. 1, p. 46, 1909.
[1]Cobbett, Centralbl. f. Bakt., 1898.
[2]— Centralbl. f. Bakt., ? ?
[3]— Centralbl. f. Bakt., Bd. 26, 1899.
Cobbett & Kanthak, Centralbl. f. Bakt., 1898.
Courmont & Doyon, Compt. rend. soc. Biol., 1893.
Croly, Arch. internat. de pharmacodynamie, T. 3.
[1]Danysz, Ann. Pasteur, 1902.
[2]— Ann. Pasteur, 1899.
[3]— Ann. Pasteur, 1899.
[4]— Ann. Pasteur, T. 16, 1902.
Denys & van de Velde, La cellule, 1896.
Décroly & Rousse, Arch. internat. de pharmacodynamie, 1899.
Dieudonné, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 13, 1897.
[1]Doerr, Wien. klin. Wochenschr., 1906, Nr. 41.
[2]— Das Dysenterietoxin. Jena, 1907, S. 41 ff.
[3]— Handbuch von Kraus & Levaditi, Bd. 2, 1909.
Dold & Ungermann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11, H. 1, 1911.
Dönitz, Deutsche Klinik zu Beginn usw. Wien, Urban u. Schwarzenberg, 1903.
[2]— Deutsche Kinik im 20. Jahrhundert, 1903.
[3]— Deutsche med. Wochenschr., 1897.
[4]— Arch. de pharmacodynamie, 1899, und Deutsche med. Wochenschr., 1897.
[1]Dunbar, Deutsche med. Wochenschr., 1903, Nr. 9.
[2]— Berl. klin. Wochenschr., 1903, Nr. 24, 26, 28.
[3]— Berl. klin. Wochenschr., 1905, Nr. 26, 28—30.
[1]v. Dungern, Zeitschr. f. allgem. Physiol., Bd. 1, 1901.
[2]— Münch. med. Wochenschr., 1898.
[3]— Deutsche med. Wochenschr., 1904.
[4]— Die Antikörper. Jena, G. Fischer, 1903.
Dzierzgowski & Predtetchensky, Concentration du sérum antidipht. Arch. des scienc. biolog. de St.-Pétersb., T. 14, Nr. 1/2, 1909; zit. nach Centralbl. f. Bakt., Bd. 45, 11.
Dzierzgowski, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 34, 259.
[1]Ehrlich, Deutsche med. Wochenschr., 1891.
[2]— Zeitschr. f. Hyg., 1892.
[3]— Die Wertbemessung des Diphtherieserums. Klin. Jahrbuch, 1897.
[4]— Berl. klin. Wochenschr., 1898.
[5]— Fortschr. d. Med., 1897.
[6]— Klin. Jahrb., 1897.
[7]— Die Wertbemessung des Diphtherie-Heilserums, Jena.
[8]— Ueber die Giftkomponenten des Diphtherietoxins. Berl. klin. Wochenschr., 1903.
[9]— Leydens Festschr. zu v. Leydens 70. Geburtstag. Berlin, Hirschwald, 1902.
[10]— Die Schutzstoffe des Blutes. Deutsche med. Wochenschr., 1901.
[11]— Schlußbetrachtungen in Nothnagels speziell. Pathol. u. Ther. Wien 1901.
[12]— Münch. med. Wochenschr., 1903, Nr. 33, 34.
[1]Ehrlich & Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., 1899.
[2]— — Ueber Hämolyse. III. Mitteil. Berl. klin. Wochenschr., 1901, Nr. 21.
[3]— — Emmerich - Fröhlichsche Anleitung zur hygienischen Untersuchung. München 1902.
Ehrlich & Sachs, Münch. med. Wochenschr., 1909, S. 2529.
Ehrlich & Wassermann, Zeitschr. f. Hyg., 1894.
Eisenberg, Centralbl. f. Bakt., 1903.
Emmerich & Löw, Zeitschr. f. Hyg. und Inf., Bd. 31.
v. Fedorow, S. P., & Ikonikoff, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 54, 1910.
Fischel & Wunschheim, Prager med. Wochenschr., 1895.
Ford, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., 1902.
— The toxins and antitox. of Poisons Mushrooms. Journ. of infect. diseas., Vol. 3, 1906.
Fränkel, C., Berl. klin. Wochenschr., 1890.
Freund & Sternberg, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., 1899.
Flechsner, Univ. of Pennsylv. med. Bull., 1902.

Flechsner & Noguchi, Journ. of exper. med., **1902**.
Fonteyne, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 52, **1909**.
Frouin, Albert, Distribution de l'antitoxine dans les humeurs et sécretions des animaux immunisés. Compt. rend. soc. Biol., T. 69, **1910**.
[2] — Extract. de l'antitoxine du sérum antitétan. coagulé. Compt. rend. soc. Biol., T. 65, Nr. 36, **1908**.
Friedberger, E., Ueber Anaphylatoxin. Zeitschr. f. Immunitätsf., **1911**.
Gebb, Aktive Immunisierung von der Conjunctiva aus. Arch. f. Augenheilk., Bd. 64, **1909**.
Gruber, Münch. med. Wochenschr., **1901**.
Gruber & v. Pirquet, Münch. med. Wochenschr., **1903**.
Hamburger, Ueber Antitoxin und Eiweiß. Münch. med. Wochenschr., **1907**.
Hausmann, Walter, & Pribram, Ernst, Ueber die zerstörende Wirkung der Galle auf Toxine und Antitoxine bei Belichtung. Biochem. Zeitschr., Bd. 17, **1909**.
Heymans, Bull. acad. royale Belgique, **1898**.
Heymans & Massoin, Arch. internat. de pharmacodynamie, **1901**.
Hirschlaff, Berl. klin. Wochenschr., **1902**.
Huntemüller, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 68, **1911**.
Hildebrandt, Virch. Arch. Bd. 131, **1893**.
Jacquée & Zuntz, E., Recherches sur l'adsorpt. des toxines, des lysines et de leurs anticorps. Arch. internat. de phys., T. 8, **1909**.
[1] Jakoby, Hofmeisters Beiträge, **1902**.
[2] — Hofmeisters Beiträge, **1903**.
Jörgensen & Madsen, Kopenhagen, Karl Julius Salomonsen, **1902**.
Kanthak, Journ. of physiol., **1893**.
Kempner & Schepilewsky, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., **1898**.
Kitashima, Berl. klin. Wochenschr., **1901**.
Kayser, Colilysine. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 42, **1903**.
Klemperer, F., Arch. f. exper. Pathol., **1893**.
Kraus & Lipschütz, Wien. klin. Wochenschr., **1903** und Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., **1904**.
Kraus & Joachim, Wien. klin. Wochenschr., **1903**.
Kraus & Eisenberg, Centralbl. f. Bakt., **1902**.
Kraus & Amiradzibi, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 6, **1910**.
Kraus & Schwoner, Ueber Beziehungen der Toxolabilität und Toxostabilität der Antitoxine zu deren Heilwert. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 1, **1908**.
[1] Kraus, Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, **1903**.
[2] — Tagung der freien Vereinigung für Mikr., **1908**.
[1] Kraus & Doerr, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 55, **1906**.
[2] — — Wien. klin. Wochenschr., **1905**, Nr. 7 und 42.
[3] — — Wien. klin. Wochenschr., **1906**, Nr. 30.
[4] — — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 55, **1906**.
v. Krogh, Mentz, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 68, **1911**.
Klemensiewiez & Escherich, Centralbl. f. Bakt., Bd. 13, **1893**.
[1] Knorr, Experimentelle Untersuchungen über die Grenze der Heilungsmöglichkeit des Tetanus usw. Habilitationsschrift, Marburg **1895**.
[2] — Münch. med. Wochenschr., **1898**.
[3] — Fortschr. d. Med., **1897**.
Kolle, Centralbl. f. Bakt., **1896**.
Kolle & Turner, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., **1899**.
Korschun, Zeitschr. f. physiol. Chemie, **1903**.
Kossel, Berl. klin. Wochenschr., **1898**.
[1] Kretz, Zeitschr. f. Heilk., **1901**.
[2] — Zeitschr. f. Heilk., **1902**.
Kruse, Deutsche med. Wochenschr., **1903**, Nr. 1 und 3.
[1] Landsteiner, Münch. med. Wochenschr., **1903**.
[2] — Centralbl. f. Bakt., **1899**.
Landsteiner, Karl, & Raubitschek, Hugo, Ueber die Adsorption von Immunstoffen. Biochem. Zeitschr., Bd. 15, **1908**.
Lang, Heymans & Massoin, Arch. internat. de pharmacodynamie, **1896**.

LEUCHS, J., Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 65, **1910**.
LIPSTEIN, Centralbl. f. Bakt., Orig., **1903**.
LUBOWSKI, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 5.
LURJE, MARIE, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 10, Nr. 3, **1911**.
MADSEN, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 32, **1899**.
MALDAGUE, L., Arch. internat. de pharmacodynamie et de thérapie, T. 18, **1908**.
DI MARTINI, Centralbl. f. Bakt., **1898**.
MARTIN & CHERRY, Proc. of Royal Soc., **1898**.
MARCUS, Zeitschr. f. physiol. Chemie, **1899**.
MARX, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., **1902**.
MARIE & TIEFFENAU, Ann. Pasteur, **1904**.
MARIE, Ann. Pasteur, **1904**.
MEAD BOLTON & COBBETT, Centralbl. f. Bakt., **1899**.
[1] MICHAELIS, L., Physikal. Chemie und Medizin von A. v. KORANYI und P. F. RICHTER, Leipzig, Thieme, Bd. 2, 434, **1908**.
[2] — Handbuch der Biochemie von C. OPPENHEIM, Bd. 2.
[1] MORGENROTH, Arch. internat. de pharmacodynamie, **1900**.
[2] — Berl. klin. Wochenschr., **1903**.
[3] — Centralbl. f. Bakt., Bd. 26, 27.
[4] — Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 48, 177, **1904**.
[5] — Berl. klin. Wochenschr., **1904**, Nr. 20.
[6] — Berl. klin. Wochenschr., **1905**, Nr. 50.
[7] — Arb. a. d. pathol. Inst. zu Berlin, **1906**.
MORGENROTH & WILLANEN, Virch. Arch., Bd. 10, **1907**.
MORGENROTH & ASCHER, Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 59, 510, **1911**.
[2] — — Therapeut. Monatshefte, **1909**.
MORAX, V., & BOISEAU, G., Sur le passage de l'antitoxine dipht. et tétan. dans l'humeur aqueuse. Ann. Pasteur, Année 25, **1911**, Nr. 9, p. 647—660.
[1] METSCHNIKOFF, Ann. Pasteur, **1898**.
[2] — Traité de l'immunité, Paris **1901**.
METSCHNIKOFF, ROUX & SALIMBENI, Ann. Pasteur, **1896**.
MILCHNER, Deutsche med. Wochenschr., **1898**.
MEYER, H., Festschrift für Jaffé, Braunschweig **1901**.
[1] MYERS, Journ. of pathologie, **1900**.
[2] — Lancet, **1898**.
MUCH, HANS, Ueber antitoxische Funktion und Eiweiß. Münch. med. Wochenschrift, **1907**.
[1] MÜLLER, E., Jahrb. f. Kinderheilk., Bd. 44.
[2] — Centralbl. f. Bakt., **1898**.
NEUFELD & HAENDEL, Ueber den Zusammenhang von Heilwert und Antitoxingehalt des Diphtherieserums. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 38, H. 2, **1911**.
NEISSER, Deutsche med. Wochenschr., **1900**.
NEISSER & WECHSBERG, Deutsche med. Wochenschr., Bd. 36, **1901**.
NIKANOROFF, Sur la préparation etc. St.-Pétersbourg **1897**. Zit. nach METSCHNIKOFF, Traité de l'immunité. Paris, Masson & Cie., **1901**.
NEUFELD & DOLD, Berl. klin. Wochenschr., **1911**, Nr. 2.
NOCARD, Journ. de connaiss. méd., **1896**.
[1] OPPENHEIMER, Toxine und Antitoxine. Jena, Gustav Fischer, **1907**.
[2] — Handbuch der Biochemie.
ORLOWSKI, Deutsche med. Wochenschr., **1895**.
OVERTON, Studien über die Narkose, **1901**.
PALTAUF, Wien. klin. Wochenschr., **1901**.
PALMIRSKI & ORLOWSKI, ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 19.
PASSINI, Wien. klin. Wochenschr., **1896**.
PAWLOWSKI & MAKSOUTOW, Zeitschr. f. Hyg., **1896**.
PARK & ATKINSON, Proc. New York path. soc., May **1903**.
PFAUNDLER, MEINHARD, Arch. f. Kinderheilk., Bd. 47, Heft 4—6, **1908**.
PFEIFFER & BESSAU, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 56.
PFEIFFER & FRIEDBERGER, Berl. klin. Wochenschr., **1902** und Centralbl. f. Bakt., **1903**.
PFEIFFER & MARX, Deutsche med. Wochenschr., **1898**.
PICK, Hofmeisters Beiträge, **1902**.
PICK, E. P., & SCHWARZ, OSWALD, Ueber die Wirkungen von Salzen auf Toxine und Tox-Antitoxinverbindung bei Gegenwart von Serumeiweiß. Biochem. Zeitschr., Bd. 17, 491, **1909**; Centralbl. f. Bakt., Bd. 44, 522.

Pröscher, Patent-Anmeldung, 20. VI. 1902.
Pohl, zitiert nach Ehrlich, Ges. Arb. z. Immunitätsforsch., Berlin, Hirschwald, 1902.
[1] Ransom, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 31, 1901.
[2] — Journ. of pathol. and bacteriol., 1899.
[3] — zitiert nach Behring, Deutsche med. Wochenschr., 1898.
[4] — Deutsche med. Wochenschr., 1895.
Rehns, Compt. rend. soc. Biol., 1902.
[1] Römer, P. H., Arch. f. Ophthalmologie, 1901.
[2] — Ueber den Uebergang von Toxin und Antikörpern in die Milch usw. Sommerfeld, Handb. d. Milchkunde, S. 472.
[3] — Ueber das Vorkommen von Tetanusantitoxin im Blut normaler Rinder. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 1, 363, 1909.
[4] — Ueber die intestinale Resorption von Serumantitoxin und Milchantitoxin. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 1, 171, 1909.
[1] Römer, P. H., & Sames, Th., Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 4, 1910.
[2] — — Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3, 1909.
[3] — — Zur Bestimmung sehr kleiner Mengen Diphtherieantitoxins. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3, 344, 1909.
Roux & Borrel, Ann. Pasteur, 1898.
Roux & Martin, Ann. Pasteur, 1894.
Roux & Vaillard, Ann. Pasteur, 1894.
[1] Sachs, H., Handbuch von Kraus-Levaditi, Bd. 1.
[2] — Handbuch der Biochemie von C. Oppenheim, Bd. 2. Berlin 1909.
[3] — Centralbl. f. Bakt., 1903.
Salge, Ueber den Durchtritt von Antitoxin durch die Darmwand des menschlichen Säuglings. Jahrb. f. Kinderheilk., Bd. 60, 1904.
Salimbeni, Nouvelles recherches sur la toxine et antitoxine cholérique. Ann. Pasteur, T. 22, 1908.
[1] Salomonsen & Madsen, Ann. Pasteur, 1898.
[2] — — Ann. Pasteur, 1897.
Schottelius, Ernst, Ueber das Toxin und das Antitoxin der Dysenteriebacillen. Med. Klinik, 1908, Nr. 32.
Schürmann, Walter, & Sonntag, Erich, Untersuchungen über die auf verschiedene Weise hergestellten Tet.-Heilseren. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, H. 4.
— — Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 12, H. 1.
Schütze, Festschr. zu Ehren Robert Kochs. Jena, Gustav Fischer, 1904.
Schwoner, Wien. klin. Wochenschr., 1902.
Seng, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., 1899.
Smirnow, Arch. des scienc. biol., S.-Pétersbourg, 1895.
[1] Shiga, Centralbl. f. Bakt., Bd. 23, 1898.
[2] — Deutsche med. Wochenschr., 1901, Nr. 43—45.
[3] — Deutsche med. Wochenschr., 1903, Nr. 7.
Smith, Th., Journ. of med. research, T. 16, 359, 1907.
[2] — Active immunity produced by so-called balanced or neutral mixtures of diphth. toxin and antitox. Journ. of exper. med., Vol. 11, 1909.
Sommerfeld, Handbuch der Milchkunde. Wiesbaden, Bergmann, 1909.
Steffens & Myers, Proc. pathol. soc., Lancet, 1898.
Strong, zit. nach Wassermann, Verhandlungen des internationalen Kongresses f. Hyg. zu Brüssel, 1903.
Studensky, Ann. Pasteur, 1899.
Tchistovitch, Ann. Pasteur, T. 8, 1899.
[1] Tizzoni & Cattani, Centralbl. f. Bakt., 1891.
[2] — — Berl. klin. Wochenschr., 1893.
[1] Todd, Journ. of hyg., Vol. 4, 1904.
[2] — Journ. of hyg., 1904, p. 30.
Traube, Berl. klin. Wochenschr., 1911, Nr. 28.
[1] Vaillard, Ann. Past., 1892.
[2] — Compt. rend. soc. Biol., 1893.
Vaillard & Roux, Ann. Pasteur, 1893.
Vincent, H., Sur les propriétés des melanges de toxine et d'antitoxine tétaniques. Compt. rend. soc. Biol., T. 62, Nr. 3, 1907.
Volk & Eisenberg, Wien. klin. Wochenschr., 1901.

VOLK & LIPSCHÜTZ, Wien. klin. Wochenschr., **1903**, Nr. 50.
[1] v. WASSERMANN, A., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 19, **1895**.
[2] — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 22, **1896**.
[3] — Zeitschr. f. Hyg., **1902**.
[4] — Ebenda, Bd. 18.
[5] — Berl. klin. Wochenschr., **1898**.
[6] — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37, Nr. 1, **1901**.
[7] — Verh. Kongreß zu Brüssel **1903**.
v. WASSERMANN, A., & TAKAKI, Berl. klin. Wochenschr., **1898**, Nr. 1.
WEICHARDT, W., Ueber das Ermüdungstoxin und dessen Antitoxin. Münch. med. Wochenschr., **1904**, Nr. 1 u. 48.
[2] — Münch. med. Wochenschr., **1905**, Nr. 26.
[3] — Ebenda, **1906**, Nr. 1 u. 36.
[4] — Ebenda, **1907**, Nr. 39.
[5] — Ueber Ermüdungsstoffe. Stuttgart **1910**.
[6] — Berl. klin. Wochenschr., **1911**, Nr. 40.
[1] WEIGERT, Deutsche med. Wochenschr., **1896**.
[2] — Ergebnisse der allgem. Pathologie, 4. Jahrg., **1897**.
WECHSBERG, Centralbl. f. Bakt., **1903**.
ZUPNIK, Prager med. Wochenschr., **1899**.

IV.

Die bakteriziden Sera.

Von

E. Friedberger,

Berlin.

Mit 4 Figuren im Text.

Die geänderte Organisation des Handbuches bedingt eine teilweise abweichende Fassung des Artikels „Bakterizide Sera" gegenüber der ersten Auflage. Es sollen in diesem Kapitel speziell nur die bakteriziden bzw. bakteriolytischen Eigenschaften des Immunserums beschrieben werden. Was die bakteriziden Qualitäten des Normalserums anlangt, sei auf das Kapitel Natürliche Immunität verwiesen. Wir müssen uns bezüglich der Normalbakterizidie auf eine kurze Darstellung beschränken und besprechen sie im wesentlichen nur, soweit die Beziehungen zur spezifischen bakteriziden Immunität in Frage kommen.

Unsere theoretischen Anschauungen über die Bakterizidie und Bakteriolyse sind wesentlich durch die Ergebnisse, die beim Studium der Lehre von der Hämolyse gezeitigt wurden, beeinflußt worden. Auch darauf kann diesmal nur in aller Kürze eingegangen werden, und es muß im übrigen auf das Kapitel „Hämolyse" verwiesen werden. Auch bezüglich der Beziehungen zwischen Bakteriolysinen einerseits, Opsoninen und Bakteriotropinen, Aggressinen usw. andererseits sei auf die einschlägigen Darstellungen in diesem Handbuche hingewiesen.

Wir sind freilich heute in Uebereinstimmung mit den Lehren, wie sie schon Bail[1], vor allem aber Bordet[2] ausgesprochen hat, der Anschauung, daß überhaupt den verschiedenen, beim Studium der Immunitätsvorgänge in Erscheinung tretenden Serumeigenschaften nicht verschiedene Antikörper zugrunde liegen müssen.

Wir nehmen vielmehr an, daß gegenüber jedem spezifischen Antigen immer nur ein spezifischer Antikörper entsteht, z. B. gegenüber dem Typhusbacillus der Typhusantikörper, und daß das, was wir seither als Agglutinin, Präzipitin, komplementablenkenden Antikörper, bakteriolytischen Ambozeptor, Opsonin, Bakteriotropin usw. bezeichneten, nur verschiedene Erscheinungsformen eben dieses einheitlichen Antikörpers sind, die je nach dem Zustande des Antigens, auf das sie einwirken, in dieser verschiedenen Weise sich offenbaren. Wirkt z. B. der Antikörper auf Bakterienleiber ein, so sehen wir ihn in der Form des Agglutinins, reagiert er nur mit einem Eiweißextrakt der Bakterien, so stellt er sich als Präzipitin dar, ist zugleich neben den Bakterien Komplement

in vitro vorhanden, so tritt er als Bakteriolysin, sind noch Leukocyten da, auch als Opsonin, Bakteriotropin in Erscheinung usw. Haben wir einen Antieiweißkörper, z. B. gegen artfremdes Serum, so wirkt er auf dieses präzipitierend, ist Komplement zugegen, so wirkt er zugleich und sogar noch in Verdünnungen, in denen keine Präzipitation mehr zu sehen ist, komplementablenkend. Ist der Prozeß in den Organismus des Tieres verlegt, so haben wir bei entsprechend großen Dosen anaphylaktischen Shock, bei kleineren psychrogene, bei noch kleineren pyrogene Wirkung, immer hervorgerufen durch einen und denselben Antieiweißkörper. NICOLLE[3] unterscheidet prinzipiell zwischen den koagulierenden und den lytischen Antikörpern. Zu den koagulierenden gehören nach ihm die Agglutinine, Präzipitine, Toxinokoaguline (gleich Antitoxine). Zu den lytischen Antikörpern rechnet er die Cytolysine, Albuminolysine (die auch aus dem amorphen Eiweiß ein echtes Endotoxin in Freiheit setzen), völlig hypothetische Toxinolysine. Die Toxinolysine setzen nach ihm aus den Toxinen die „Toxins vrais“ (die echten Toxine) in Freiheit.

Man hat aus der Tatsache eines scheinbar verschiedenen Gehaltes des Serums an den einzelnen Antikörperqualitäten eine Verschiedenheit der Antikörper angenommen und hat z. B. Sera beschrieben, die nur bakteriolytische, und nicht agglutinierende, andere, die nur bakteriotrope und nicht bakteriolytische Eigenschaft besaßen. Es hängt aber das Hervortreten der einen oder der anderen Eigenschaft beim einen und demselben Serum sowohl von der angewandten Technik wie auch von der Beschaffenheit des zur Verwendung gelangten Antigens wesentlich mit ab.

So haben z. B. LEVADITI & IMAN[4] gefunden, daß Typhusbakterien aus einer 4-stündigen Bouillonkultur phagocytoseresistent bleiben, während die gleichen, 24—28 Stunden alten Kulturen leicht phagocytabel sind. Es kann also je nach Beschaffenheit der Kultur im Serum mehr die eine oder andere Qualität hervortreten.

NEUFELD & HÜHNE[5] haben gegenüber dem Paratyphusbacillus nur bakteriotrope Wirkung des Immunserums, keine Bakteriolyse beobachtet. Doch hat BEZZOLA[6] zeigen können, daß auch die bakteriolytische Fähigkeit unter geeigneten Versuchsbedingungen sehr wohl hervortritt. Sie fehlt in vitro, nach der Methode von STERN & KÖRTE[7] tritt aber im Peritoneum des Meerschweinchens auch extracellulär auf und ist auch außerhalb des Organismus bei Verwendung einer anderen Versuchsanordnung zu konstatieren.

Man braucht also auch danach keine Verschiedenheiten der Bakteriotropine von den Bakteriolysinen anzunehmen.

Die obige Betrachtungsweise vereinfacht unseres Erachtens wesentlich die mit der Aufdeckung neuer Serumeigenschaften immer komplizierter gewordenen Anschauungen über die Pluralität von Antikörpern im Serum. Gleichwohl ist natürlich die getrennte Darstellung der einzelnen Serumqualitäten durchaus am Platze, auch wenn man ihnen gegenüber einem bestimmten Antigen jeweils nur einen Antikörper zugrunde legt.

Es sind zwar, wie des näheren noch gezeigt werden wird, die Antikörperqualitäten des normalen Organismus nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse mit größter Wahrscheinlichkeit auf die gleichen Ursachen zurückzuführen wie die des immunisierten, aber es dürfte immerhin eine getrennte Behandlung bei der bakteriziden Immunität schon mit Rücksicht auf die historische Entwickelung und die Uebersichtlichkeit der Darstellung angebracht sein.

Es sei schon gleich hier darauf hingewiesen, daß mehr bei den übrigen Antikörperqualitäten als gerade bei der Bakteriolyse Untersuchungen vorliegen, die auf gewisse Differenzen zwischen den normalen und den Immunantikörpern hinweisen.

Gruber[8] hat Unterschiede bezüglich der Hämolyse zwischen normalem und Immunserum aufgedeckt, die allerdings von Morgenroth & Sachs[9] bestritten werden. Doch fand auch Shibayama[10], daß hämolytisches Normalserum durch Dialyse leichter unwirksam wird als Immunserum. Aehnlich fand Landsteiner[11] eine geringere Resistenz des agglutinierenden Normalserums gegenüber der Erhitzung im Vergleich mit Immunserum. Auch die Absorption der Normalagglutinine ist nach Eisenberg & Volk[12] eine verminderte. Kraus[13] hat Verschiedenheiten zwischen Normalantitoxinen und Immunantitoxinen aufgedeckt.

Doch muß bei allen diesen Differenzen immer in Erwägung gezogen werden, daß auch hier leicht bloße Unterschiede in der Quantität und Avidität qualitative Differenzen vortäuschen können. Sicher unterscheiden sich nach den Untersuchungen über Avidität von P. Th. Müller[14] (angestellt mit Agglutininen) die Immunantikörper von den normalen durch eine erhöhte Avidität zum Antigen.

Die Bakterizidie des Normalserums.

Sowohl für die natürliche wie für die künstlich erworbene spezifische Immunität stehen zwei Theorien zur Erklärung des Phänomens der Bakterienvernichtung fast von Anbeginn der Forschung im Vordergrund des Interesses; es sind das die Phagocytentheorie von Metschnikoff, die die natürliche Widerstandskraft des Organismus gegenüber gewissen Infektionskrankheiten auf die aktive Tätigkeit der Leukocyten zurückführt, dem Körper also eine dynamische Rolle bei der Keimvernichtung zuschreibt, und andererseits die humorale Theorie (R. Pfeiffer), nach der bestimmten Stoffen der Körpersäfte die Aufgabe der Bakterienvernichtung zufällt, die also dem infizierten Organismus wenigstens bis zu gewissem Grade eine statische Rolle bei dem Immunitätsprozeß vindiziert.

Eine vermittelnde Rolle zwischen beiden Anschauungen kommt der Opsoninlehre bzw. der Lehre von den Bakteriotropinen zu, die, begründet auf älteren Versuchen von Denys & Leclef[15], von Wright in England, von Neufeld in Deutschland in erster Linie vertreten wird.

Die ersten Beobachtungen über bakterienvernichtende Eigenschaften der Blutflüssigkeit überhaupt wurden von Traube & Gscheidel[16] angestellt.

Weiter hat Grohmann[17] zuerst im Jahre 1884 über einen ungünstigen Einfluß des extravaskulären Blutes auf Bakterien berichtet.

Die ersten exakten Untersuchungen auf Grund der modernen Züchtungsmethoden rühren von v. Fodor[18] her, der dem Blut eine ausgesprochene bakterientötende Fähigkeit zuschrieb. Er sah sowohl saprophytische wie pathogene Keime (z. B. Milzbrandbacillen), die in die Blutbahn des Kaninchens eingespritzt wurden, schnell verschwinden; ferner fand er auch das extravaskuläre Blut, bei Körpertemperatur gehalten, zu Anfang stark bakterizid, während es später den Bakterien eine starke Vermehrung gestattete.

Wyssokowicz[19], der gleichfalls injizierte Bakterien schnell aus dem Blute verschwinden sah, fand sie zum Teil in den Gefäßendothelien der Kapillaren, vor allem von Leber, Milz und Knochenmark, und meinte, daß sie erst hier, nicht schon im Blut vernichtet würden.

Systematische Untersuchungen über die Bakterizidie des Blutes in vitro wurden von FLÜGGE[20] und vor allem von NUTTALL[21] angestellt. Dieser Autor fand, daß die verschiedenen Blutarten imstande waren, eine große Anzahl von Bakterien zu vernichten, daß aber mit der Zeit diese Fähigkeit nachließ und das Blut sogar sich in einen guten Nährboden für Bakterien verwandelte.

NUTTALL hat auch zuerst die richtige Beobachtung gemacht, daß das Blut durch Erwärmung auf 56° seiner bakteriziden Fähigkeit beraubt wird. Derselbe Mikroorganismus wird nach seinen Untersuchungen nicht durch das Blut verschiedener Tiere gleich stark beeinflußt und das Blut einer bestimmten Species wirkt keineswegs gleichmäßig auf alle Bakterienarten. Die gleichfalls von NUTTALL beobachtete Vernichtung der Bakterien in Pericardialflüssigkeit und Humor aqueus (leukocytenarme Flüssigkeiten) sprachen besonders gegen die Theorie METSCHNIKOFFS. Es handelte sich jedoch bei der Bakterizidie im Glaskörper nach den Untersuchungen von OLGA METSCHNIKOFF[22] um ganz andere Stoffe als die des Serums, da sie durch Erwärmung auf 56° nicht zerstört werden.

Genauere Untersuchungen über normale bakterienvernichtende Funktionen des Blutes verdanken wir sodann vor allem H. BUCHNER[23-27] und seiner Schule.

BUCHNER zeigt zuerst, daß dem zellfreien Blutserum und Blutplasma genau dieselben bakteriziden Eigenschaften zukommen wie dem Gesamtblute.

Er bestätigte die wichtige Beobachtung NUTTALLS, daß man durch halbstündiges Erwärmen auf 56° (6—7 Stunden auf 45°) dem Blute seine bakterizide Fähigkeit entziehen kann, während niedrigere Temperaturen es nicht beeinflussen; dagegen tritt nach BUCHNER eine Zerstörung durch Sonnenlicht, Luftsauerstoff und durch die bakteriziden Sera anderer Tiere ein. Neutralisation des alkalischen Serums, sowie Entfernung der Kohlensäure ist ohne Einfluß auf die Wirksamkeit des Serums. Bei der Filtration durch keimdichte Filter wird ein Teil des „Alexins“ zurückgehalten (BAIL[28, 29]).

Von großer Wichtigkeit erwies sich nach BUCHNERS Untersuchungen die Gegenwart von Salzen im Serum. Durch mehr als 12-fache Verdünnung mit Wasser, durch Dialyse gegen destilliertes Wasser (nicht durch die gegen Kochsalzlösung), wird die Wirksamkeit des Serums vernichtet, durch den Zusatz von Kochsalz wiederhergestellt. Besonders vorteilhaft für die Wirkung des Serums zeigte sich die Gegenwart von Ammoniumchlorid und Ammoniumsulfat.

HEGELER[30] zeigte, daß die bakterizide Fähigkeit durch starke Säuren zerstört wird, während sie sowohl in alkalischem wie in schwach saurem Serum erhalten bleibt.

BUCHNER gab diesen bakterienfeindlichen Stoffen des Serums, die er für das wesentlichste schützende Prinzip des Körpers gegenüber den Mikroorganismen hielt, den Namen Alexine (von ἀλέξειν = abwehren).

Die bakterienauflösende Fähigkeit des normalen Blutes ist schon bei neugeborenen Tieren vorhanden. KRAUS & CLAIRMONT[31] fanden das Serum von 1 bis 2 Wochen alten Tauben gegenüber Bacterium coli wirksam.

Der Hühnerembryo besitzt dagegen gegenüber Bakterien so gut wie keine bakterizide bzw. bakteriolytische Wirkung (M. RYWOSCH[32]).

SOMMERFELD[33] hat zuerst Untersuchungen über den Gehalt der Milch normaler Tiere an bakteriolytischen Substanzen angestellt. Das Resultat war negativ. KOLLE[34] fand in der Kuhmilch bakterizide Stoffe für den Dysenteriebacillus, nicht aber für den Typhus- und Colibacillus, im Gegensatz zu früheren Beobachtungen von BEHRING[35]. MORO[36] fand gleichfalls ein bakterizides Vermögen gegenüber Typhusbacillen, dreißig Minuten lange Erwärmung auf 56° inaktivierte die Milch. Nach FOKKER[37] wird die bakterizide Kraft der Ziegenmilch durch 70° zerstört. Die menschliche Milch enthält viel weniger bakterizide Stoffe als die Kuhmilch. LASCHTSCHENKO[38] fand eine bakteriolytische Wirkung des Hühnereiweißes gegenüber Anthrax, Proteus Zenkeri, Proteus Zopfii, Bacillus megatherium. Durch Erhitzen auf 55—60° wird das von LASCHTSCHENKO angenommene bakterizide bakteriolytische Ferment nicht zerstört.

Moro[39], sowie Moro & Kaumheimer[40] konstatierten auch, daß das Serum der Brustkinder eine bedeutend höhere Bakterizidie aufweist, als das der künstlich ernährten. Heimann[41] fand gleichfalls bei Brustkindern höheren Komplementgehalt. Auch beim Einzelindividuum war die Bakterizidie des Serums in der Stillperiode stärker, als nach Einführung der künstlichen Ernährung.

Dieser Umstand dürfte auf eine direkte Uebertragung von Schutzstoffen mit der Milch, wie sie Ehrlich & Brieger[42, 43] bei der Ziege nachgewiesen haben, zurückzuführen sein und auch in der Beobachtung von Halban & Landsteiner[44], daß das mütterliche Serum stärker bakterizid wirkt als das kindliche, eine Erklärung finden.

Auffallende Schwankungen beobachteten Kraus & Clairmont im bakteriziden Vermögen normaler Tauben gegen Bacterium coli. Bei ihren Untersuchungen in den Monaten Januar bis Juni fanden sie das Serum von Tauben stark bakterizid, im Dezember hatte es seine keimvernichtende Eigenschaft völlig verloren, dieselbe aber einen Monat darauf bereits wieder erworben.

Aehnliche Schwankungen beobachtete Trommsdorff[45] beim Serum des Menschen. Nach Petterson[46] besaß das Serum von in Stockholm untersuchten Hühnern ausgesprochene, wenn auch geringe bakterizide Eigenschaft gegenüber Milzbrand, während bei Tieren der gleichen Species, die in Prag untersucht wurden, das Resultat ein absolut negatives war.

Ueber Schwankungen des Alexingehaltes unter gewissen äußeren Bedingungen vgl. das Kapitel „Natürliche Immunität“ in diesem Band.

Löwit[47] untersuchte in einer Arbeit „zur Topographie der bakteriziden Serumwirkung“, ob das Blut in den verschiedenen Regionen des Körpers, so wie es Schwankungen in der Temperatur und im Zuckergehalt zeigt, auch Schwankungen im Antikörpergehalt aufweist. Er bestimmte die bakteriziden Eigenschaften des normalen Kaninchenserums gegenüber Milzbrand, Cholera und Typhus. Das Blut wurde aus der Carotis, der Jugularis oder Arteria femoralis entnommen. Es zeigten sich in der Tat erhebliche Unterschiede in der bakteriziden Wirkung des Blutes bezüglich der einzelnen Regionen. Die stärkste Bakterizidie gegenüber den Vibrionen weist die Carotis auf. Arteria und Vena femoralis haben geringeres bakterizides Vermögen.

Der chemischen Natur nach rechnete Buchner die Alexine ursprünglich zu den Eiweißkörpern; er schloß dies aus Versuchen, in denen es ihm gelang, durch mehrmaliges vorsichtiges Gefrieren und Wiederauftauen eine Trennung des Serums in zwei Schichten zu erzielen, von denen nur die untere (eiweißreiche) bakterizide Fähigkeit besaß, nicht die obere durch den Gehalt an kristalloïden Substanzen ausgezeichnete. Die Wirkung der Alexine führt Buchner[48] ursprünglich auf eine Uebertragung von Bewegungszuständen des sie zusammensetzenden hochkomplizierten Plasmas auf andere Eiweißkörper zurück, nicht nur auf morphotische (Bakterien), sondern auch auf gelöste, wodurch die gegenseitig schädigende Wirkung der Sera aufeinander und die antitoxische Wirkung erklärt wird (das Alexin zerstört das Toxin). Später rechnete er die Alexine zu den proteolytischen Enzymen (Endoenzyme Hahn & Geret[49]). Damit erklärt sich auch ihre zuerst von Daremberg[50] sowie von Buchner beobachtete Fähigkeit, neben Bakterien Blutkörperchen anderer Tierspecies zu vernichten.

Die Isolierung der Enzyme ist Buchner nicht gelungen, sie können jedoch nach ihm an Eiweiß gebunden ausgefällt werden, ohne Verlust ihrer Wirksamkeit.

War die Buchnersche Anschauung richtig, daß die bakterienvernichtende Fähigkeit des Blutserums die Ursache der natürlichen Immunität einer Tierspecies gegen gewisse Bakterienarten darstellt,

so mußte man eine Konkordanz zwischen Bakterizidie des Blutserums in vitro und natürlicher Immunität der betreffenden Tierart verlangen.

Dementsprechend machen BEHRING[51, 52], NISSEN[53], sowie BEHRING & NISSEN[54] darauf aufmerksam, daß zwischen den bakterienvernichtenden Eigenschaften in vitro und der natürlichen Resistenz bei einer Reihe von Tieren wenigstens gewisse Beziehungen bestehen. Ferner besitzt nach der Untersuchung von BEHRING & NISSEN das Immunserum eine höhere bakterienvernichtende Eigenschaft als das Normalserum des nicht vorbehandelten Tieres der gleichen Species. Das Serum des mit Vibrio Metschnikoff immunisierten Meerschweinchens erwies sich z. B. nach BEHRING & NISSENs Untersuchungen stärker bakterizid als das des Normaltieres. Aehnliche Beobachtungen wurden alsbald von METSCHNIKOFF[55] erhoben.

LUBARSCH[56, 57] dagegen weist auf den Unterschied hin, der zwischen der hohen bakterienvernichtenden Fähigkeit des Kaninchenblutes in vitro und der hohen Empfänglichkeit des Tieres für Milzbrand besteht, während er umgekehrt im Gegensatz zu NUTTALL und vielen anderen Autoren bei dem für Anthrax relativ unempfänglichen Hund nur geringe Bakterizidie in vitro beobachtete. Durch Zusatz fremder Leukocyten, kurzen Aufenthalt in der Bauchhöhle der Ratte oder des Kaninchens, sowie durch Zusatz von Kaninchen- oder Hühnerserum erhält das Hundeserum nach BAIL & PETTERSON[58] auch in vitro bakterizide Fähigkeiten, während das wirksame Kaninchenserum durch Organzellen der eigenen Species seiner Bakterizidie beraubt wird.

BUCHNER suchte den Widerspruch mit den Resultaten LUBARSCHs zum Teil auf Grund folgender Versuchsanordnung zu klären. Er brachte Bakterien in Wattebäuschchen eingehüllt in wirksames Serum und konstatierte hier ihre Vermehrung, während in Kontrollproben des gleichen Serums frei eingesäte Bakterien zugrunde gingen. BUCHNER nimmt an, daß die im Innern des Wattebausches vor der Alexinwirkung zunächst geschützten Bakterien sich ungehindert vermehren können und dann, nachdem die in das freie Serum ausgetretenen Keime das Alexin aufgebraucht haben, nicht weiter in ihrer Entwickelung gehemmt werden. Dieser Forscher stellt sich nun vor, daß ähnliche Bedingungen in dem engen Kapillargebiet des tierischen Organismus vorliegen können, wo die Bakterien sich ungestört zu vermehren vermögen bis die bakteriziden Kräfte des Körpers aufgebraucht sind, respektive nicht mehr zur Vernichtung der Keime ausreichen *).

Es dürfte aber hier die von BAIL und PETTERSON zuerst beobachtete, von HOKE[59] sowie BAIL[60] bestätigte Tatsache zur Erklärung heranzuziehen sein, wonach überhaupt die Gegenwart von Organzellen die Bakterizidie aufhebt.

Ferner sind die grundlegenden Versuche von GRUBER & FUTAKI[61] geeignet, diesen Widerspruch zu klären. Die Autoren entdeckten neuerdings besondere milzbrandfeindliche Stoffe, die aus den Leukocyten und Blutplättchen stammen und mit dem Alexin nicht identisch sind; sie bezeichnen diese Stoffe als Anthrokozidine (Näheres hierüber s. S. 324).

Wenn die Tatsachen mit den Forderungen der BUCHNERschen Theorie wirklich übereinstimmen sollten, so mußten ferner die bakteriziden Fähigkeiten des Serums eines infizierten Tieres abnehmen, sobald die Bacillen sich im Blute vermehrten.

In diesem Sinne fand FLÜGGE[20] 36 Stunden nach der Milzbrandinfektion bereits die bakterizide Fähigkeit des extravaskulären Blutes viel geringer als beim Normaltier.

Interessante und ungemein wichtige Aufschlüsse ergaben dann die Untersuchungen von NISSEN. Eine übermäßige Einsaat von Bakterien beraubt das Blut nach diesem Autor in vitro seiner Bakterizidie. Das gleiche wurde beobachtet, wenn die betreffende Bakterienart vor der Entnahme des Blutes dem lebenden Tiere eingeimpft worden war. Er konstatierte, daß die Wirkung der Mikroorganismen dabei spezifisch ist, indem z. B. durch Injektion von Kulturen

*) Für den Widerspruch, der zwischen dem Verhalten des Kaninchenserums in vitro und der Empfänglichkeit dieses Tieres besteht, geben BAIL & PETTERSON[58] eine interessante Erklärung, bezüglich deren hier auf S. 366 verwiesen werden muß.

des Micrococcus aquatilis die bakterizide Wirkung des Blutes im wesentlichen nur gegenüber dieser Bakterienspecies, nicht so sehr gegenüber Cholera- und Typhusbacillen herabgesetzt war. Er führt die Erhaltung der Kokken bei einer zweiten Injektion auf die bei der ersten gesetzte Veränderung des Blutes zurück. Die Ursache der Abnahme der Bakterizidi ist nach ihm in den Bakterien selbst und nicht in deren Stoffwechselprodukten zu suchen, denn filtrierte Kulturen der betreffenden Mikroorganismen waren ohne Einfluß.

Charrin & Roger (zit. nach Székely & Szanna [62]) fanden Wachstumshemmung des B. pyocyaneus im Blute des mit dieser Species infizierten Tieres, nicht aber im Blute des normalen Tieres. Dagegen fand Lubarsch [63] das Blut des subkutan mit Anthrax infizierten Kaninchens relativ bald unwirksam zu einer Zeit, wo im Blut selbst noch keine Bacillen kreisten. Nach Székely & Szanna schwindet die keimvernichtende Kraft erst dann, wenn die Bakterien in großen Mengen in den Kreislauf eingedrungen sind. Analoge Befunde erhob Gatti [64]. Später hat übrigens Lubarsch auf Grund neuer Versuche seine früheren Resultate selbst bestritten und behauptet, daß das Kaninchenblut auch während der Milzbrandinfektion seine bakterizide Fähigkeit in vitro bewahrt.

Andererseits fand wieder Bastin [65] gelegentlich einer Nachprüfung der Nissenschen Versuche, daß die Bakterizidie durch vorherige Injektion großer Mengen von Bakterien — lebend oder tot — beim Tier proportional der eingebrachten Bakterienmenge abnimmt. Eine Spezifität, wie sie Nissen dabei konstatiert hatte, wurde von ihm nicht gefunden. Die Abnahme der die Bakterien vernichtenden Eigenschaften ist nach ihm fast momentan zu konstatieren, jedoch sind nach 5—6 Stunden die in Frage kommenden Stoffe regeneriert.

Denys & Kaisin [66] bestätigen die Resultate Bastins. Sie beobachteten, daß auch der Zusatz toter Bakterien zum Serum in vitro die keimvernichtende Fähigkeit verringert *). Das geringe bakterizide Vermögen des Hundeserums in vitro gegenüber Milzbrand im Verhältnis zu der Unempfänglichkeit dieser Tiere für Milzbrand erklären sie damit, daß in diesem Fall erst im Verlauf der Infektion im Organismus Alexine gegenüber den eingedrungenen Bakterien gebildet werden. Lubarsch, Bail [68] und Conradi [69] konnten diese letzteren Beobachtungen der beiden vorerwähnten Autoren nicht bestätigen und später kam auch Denys selbst in einer gemeinsam mit Havet [67] ausgeführten Arbeit zu einem anderen Resultat.

Székely [70] kam zu analogen Ergebnissen wie Bastin, Denys & Kaisin. Das Blut infizierter Tiere war in seinen Versuchen in vitro so lange bakterizid, als es diese Eigenschaft auch im Körper besaß.

Zu Anfang einer Milzbrandinfektion, wo wenige Milzbrandbacillen im Blute waren, war auch das Serum in vitro bakterizid. Umgekehrt war nach den Untersuchungen von Székely das Verhalten des Serums gegenüber der Cholera. Im ersten Stadium der Infektion, in dem sich reichlich Bakterien im Blute fanden, erwies sich das Serum in vitro nicht bakterizid. Proportional der Abnahme der Bacillen im Blute aber steigerte sich auch die keimvernichtende Fähigkeit des extravaskulären Blutes.

Bonaduce [71] hat gleichfalls gefunden, daß bei Zusatz von toten Milzbrandbacillen die Bakterizidie des Blutes abnimmt.

Auch Schneider [72] sah in vitro durch Zusatz abgetöteter filtrierter sowie unfiltrierter Kulturen von Typhus und Cholera zu Kaninchenblut die Bakterizidie gegenüber lebenden Mikroorganismen dieser Species herabgesetzt. Er sieht den Einfluß der toten Bakterien gleichfalls in einer Schädigung der Alexine.

Bail [68] konnte die Resultate der vorerwähnten Autoren bestätigen und glaubt die Divergenz zwischen der Anschauung Nissens und der der übrigen Forscher bezüglich der spezifischen Absorption des Alexins durch Differenzen in der Zahl der im Blut eingebrachten Bakterien zu erklären. Die scheinbare, qualitative, spezifische Wirkung toter Bakterien auf die Alexine erklärt sich nach ihm als lediglich quantitative, bedingt durch die verschiedene Empfindlichkeit der verschiedenen Bakterienspecies für das Alexin und ihr verschieden starkes Neutralisierungsvermögen.

Conradi [69] konstatierte in Uebereinstimmung mit den späteren Untersuchungsergebnissen Lubarschs und entgegen dem Resultat der meisten übrigen Autoren,

---

*) Baumgarten [73] führt die Aufhebung der Bakterizidie durch die Einsaat toter Bakterien in Serum auf damit geschaffene verbesserte Ernährungsbedingungen für die lebenden Bakterien zurück, ein Einwurf, der hinfällig ist, da, wie Wilde gezeigt hat, auch die hämolytische Fähigkeit durch vorherigen Zusatz abgetöteter Bakterien zum Serum aufgehoben wird.

daß nach intravenöser Injektion von Milzbrandbacillen bei Kaninchen weder im ersten Stadium (Blut bacillenfrei), noch im zweiten Stadium der Infektion (Eindringen der Bacillen in die Blutbahn) die bakteriziden Eigenschaften des extravaskulären Serums vermindert waren. Ebenso verhielt sich das geringe bakterizide Vermögen des Hundes im Verlauf einer Infektion konstant, im Gegensatz zu den oben zitierten Befunden von Denys & Kaisin. Die abweichenden Resultate der älteren Autoren erklärt Conradi aus fehlerhaften Versuchanordnungen.

Seine Experimente sprechen also gegen eine alexinparalysierende Wirkung der Kruseschen[74] Lysine, oder die Zerstörung der Schutzstoffe durch bakterielle Zersetzungsprodukte (Denys & Kaisin, Schneider) oder ein Aufbrauchen der Alexine (Nissen).

Wilde[75, 76] konnte gelegentlich einer Nachprüfung die Resultate Conradis keineswegs bestätigen. Er fand die bakterizide Kraft des Kaninchenserums gegenüber Milzbrand vernichtet resp. in starker Abnahme, sobald Milzbrandbacillen in großer Zahl im Blut vorhanden waren. Wilde gelang es, im Gegensatz zu Conradi die aktiven Eigenschaften verschiedener Normalsera (Rind, Hund, Kaninchen) durch Zusatz von abgetöteten Bakterien in vitro aufzuheben, vorausgesetzt, daß die Menge der abgetöteten Keime ausreichend und die Temperatur für die Absorption günstig war.

Wilde hat bei dieser Gelegenheit noch weitere interessante Studien über die Absorption der Alexine veröffentlicht.

Die Absorption des Alexins gelang ihm auch mit lebenden und toten Organzellen desselben Organismus, mit Hefezellen und mit nicht organisierten unlöslichen Eiweißkörpern (Aleuronat), ähnlich wie v. Dungern[77] und Hoke[78] durch diese Elemente die hämolytischen Körper absorbieren konnten. Erhitzen der alexinabsorbierenden Zellemulsion auf 100° raubte ihr entgegen v. Dungerns Beobachtung nicht das Adsorptionsvermögen. Durch die Sättigung mit Alexin ist dem Aleuronat die Fähigkeit genommen, neues Alexin zu absorbieren.

Durch gleichzeitige Injektion von „alexinabsorbierenden" bei 60 oder 100° abgetöteten Milzbrand- oder Megatheriumbacillen vermochte Wilde entsprechend seinen oben angeführten Resultaten Meerschweinchen mit einer an und für sich nicht tödlichen Dosis von Typhus oder Cholera zu töten.

Auf Grund der von ihm beobachteten Absorption des Alexins durch Organzellen glaubt Wilde die Tatsache erklären zu können, daß sich pathogene Mikroorganismen mit Vorliebe an den Stellen des Körpers festsetzen, wo ein ausgedehnter Zellzerfall stattgefunden hat, wo also die bakterienfeindlichen Alexine abgelenkt sind (Quetschwunde, Knochenfraktur usw.). Der vage Begriff des „Locus minoris resistentiae" fände durch diese Annahme eine befriedigende Erklärung.

Wilde glaubt, daß die Absorption des Alexins durch die dazu befähigten Elemente einer chemischen Bindung entspricht, was von Ehrlich & Sachs[79] zugunsten der Annahme einer physikalischen Absorption bestritten wird.

Bezüglich der Spezifität teilt Wilde die vorerwähnte Bailsche Anschauung. In einer Erwiderung auf die Wildesche Arbeit führt Conradi[80] die Verschiedenheit seiner Resultate von denen Wildes auf Differenzen in der Einsaatziffer der Bakterien zurück (Verwendung größerer Mengen von Bakterien bei Wilde).

Untersuchungen über den Alexingehalt des menschlichen Blutes im Verlauf von Infektionskrankheiten wurden, wenn wir zunächst von den ausschließlich mit hämolytischen Seris angestellten Versuchen absehen, von Stern[81], Prudden[82], Rovighi[83], Pansini[84], Silvestrini[85], Hahn[86], Trommsdorff[87], Löwenstein[88] angestellt.

Hahn fand bei seinen Untersuchungen an pestkranken Menschen analoge Verhältnisse, wie sie Wilde z. B. bei milzbrandinfizierten Kaninchen beobachtet hatte. Das Verschwinden der Alexine erfolgt erst bei der Ueberschwemmung des Blutes mit den Pestkeimen (1—36 Stunden ante mortem).

Rovighi, Silvestrini und Löwenstein fanden im allgemeinen das Alexin während der Infektion, gegenüber dem betreffenden Mikroorganismus vermindert.

Trommsdorff, der bei septisch schwer Erkrankten und Carcinomatösen keine Veränderung des Alexingehaltes gegenüber der Norm konstatierte, nimmt aber gleichfalls ein Verschwinden dieser Stoffe kurz vor dem Tode an.

Fassen wir das Resultat der Untersuchungen der einzelnen Forscher kurz zusammen, so ergibt sich eine vollkommene Divergenz der Meinungen, indem nach den einen Autoren durch die Einfuhr

von Bakterien ins Blut die bakterizide Wirkung in vitro und in vivo verringert ist oder ganz schwindet (Lubarsch 1891, Székely & Szanna, Bastin, Bail, Wilde) oder unter gewissen Bedingungen vermehrt ist (Denys & Kaisin) oder endlich konstant bleibt (Lubarsch 1899, Conradi).

Doch sprechen die meisten, auch spätere, weiter unten noch anzuführende Versuche für die Tatsache einer Verringerung der Schutzkräfte nach Zufuhr von Bakterien.

Auf Grund derartiger Beobachtungen stellte z. B. Kruse[89] eine interessante Theorie, die „Lysintheorie" auf, der zufolge den Bakterien selbst Angriffsstoffe gegen die „Alexine" des Körpers zukommen, die er als „Lysine" bezeichnet.

Später hat Bail derartige Anschauungen mit Erfolg wieder aufgegriffen und eine sehr interessante Theorie aufgestellt und mit seinen Schülern in zahlreichen Arbeiten ausgebaut, wonach die von den Bakterien selbst abgesonderten „Aggressine" durch die Aufhebung der Schutzeinrichtungen des Organismus den Verlauf der Infektion wesentlich beeinflussen (näheres s. S. 332).

Die Quelle der Alexine und anderer normaler Schutzstoffe.

Buchner[90] hält das Alexin für einen durchaus einheitlichen Körper, der sowohl die Vernichtung der verschiedensten Bakterienarten wie der roten Blutkörperchen vermöge der ihm eigenen enzymatischen Natur bewirkt.

Die Annahme, daß das Alexin ein Enzym sei, legte einen zelligen Ursprung desselben nahe:

Denys, Kaisin & Havet[66, 67] fanden gelegentlich ihrer Untersuchungen zuerst, daß leukocytenreiche Exsudate stärker bakterizid als die entsprechenden Blutsera waren. Buchner, der die gleiche Beobachtung machte, konstatierte, daß Erwärmung auf 56° auch den leukocytenhaltigen Flüssigkeiten das bakterizide Vermögen raubt, und er folgerte daraus die Identität der bakterienvernichtenden Stoffe des Serums und der leukocytenreichen Exsudate. Durch diese Untersuchung sah er sich veranlaßt, die Leukocyten als die Bildungsstätte dieses eigentümlichen Fermentes anzusehen, weshalb er diesen Zellen den Namen „Alexocyten" gab. Uebrigens hatten schon vorher Hankin[91, 92], Kanthak & Harty[93, 94] die Alexine als Sekretionsprodukt speziell der eosinophilen Leukocyten aufgefaßt, eine Annahme, die jedoch in dieser Einschränkung der Kritik in keiner Weise standgehalten hat.

Die Vorstellung, daß innerhalb von Körperzellen bakterienfeindliche Stoffe chemischer Natur vorhanden seien, hatte nichts Befremdendes mehr, nachdem Vaughan & Mc. Clintock[95] und in absolut einwandfreier Weise A. Kossel[96] aus dem Kern der Leukocyten die Nukleinsäure gewonnen haben, welche in 0,5-proz. Lösung auf eine Reihe von Bakterien sicher keimtötend wirkte.

Die Untersuchungen von Denys & Havet und Buchner fanden eine Bestätigung in den Arbeiten von van de Velde[97], Bail[98], Jakob[99], Schattenfroh[100—102], Löwit[103], Bordet[104], Everart, Demor & Massard[105], Werigo[106], die alle konstatierten, daß zwischen dem Leukocytengehalt einer Flüssigkeit und ihrer Bakterizidie ein gewisser Zusammenhang besteht. Leukocytenreiches Blut bezw. Exsudat wirkt stärker bakterizid als leukocytenarmes Blut. Entfernung der Leukocyten durch Filtration oder Zentrifugierung vermindert die keimvernichtende Fähigkeit, Zusatz von Leukocyten erhöht sie.

Diese Versuche waren zunächst dazu angetan, die Metschnikoffsche Theorie, der zufolge den lebenden Leukocyten die Hauptfunktion der Keimvernichtung obliegt, vollkommen zu bestätigen.

Buchner[107, 108] bestreitet jedoch entschieden, daß die Leukocyten eine aktive phagocytäre Rolle bei der Bakterizidie spielen. Er zeigte

auf Grund einer Reihe von weiteren Untersuchungen, die er, seine Schüler HAHN[109], LASCHTSCHENKO[110] und TROMMSDORFF[111, 112] vornahmen, daß es allein physiologische Sekretionsprodukte der Leukocyten sind, welche die erwähnte Wirkung hervorbringen.

BUCHNER schloß die Phagocytose in seinen Versuchen mit KOLB & SCHUSTER[113] dadurch gänzlich aus, daß er die Leukocyten eines Exsudats (durch Injektion von sterilisiertem Weizenkleber in die Pleurahöhle von Kaninchen und Hunden gewonnen) durch Gefrierenlassen und Wiederauftauen abtötete. Hierbei werden, wie frühere Untersuchungen ergaben, die Leukocyten getötet, das Alexin aber nicht geschädigt. Es zeigten in der Tat derartig behandelte Exsudatproben ausgesprochen bakterizide Eigenschaften und stärkere als das gewöhnliche Serum.

Nach BUCHNERS, HAHNS, LASCHTSCHENKOS und TROMMSDORFFS Anschauungen findet die Sekretion der wirksamen Stoffe im wesentlichen aus den lebenden Leukocyten statt und ist als Ausdruck einer physiologischen vitalen Funktion anzusehen; zum Teil werden aber die Alexine auch bei dem in dem Organismus immer stattfindenden Zerfall von weißen Blutkörperchen an das Serum abgegeben.

BUCHNER betont allerdings, daß die Leukocyten keineswegs so labile Elemente sind, wie man es früher allgemein auf Grund der Untersuchungen von ALEX. SCHMIDT über die Gerinnung des Blutes annahm. Nach BUCHNER bleiben vielmehr die Leukocyten bei niederer Temperatur extravaskulär noch wochenlang am Leben. Zu entsprechenden Resultaten kamen auch LAMBOTTE & STIENON sowie PETTERSON.

Speziell die Untersuchungen von LASCHTSCHENKO und TROMMSDORFF, die (in analoger Weise vorher VAN DER VELDE[97]) fremdes Serum (auf 60° erhitzt) mit Leukocyten versetzten, ergaben eine Ausscheidung des Alexins aus Leukocyten, die sicher noch nicht zerfallen waren, wie die Untersuchungen von TROMMSDORFF mittelst der Zählmethode dartun, und auch nicht nachweisbar geschädigt waren, wie das der Autor aus den Resultaten der vitalen Färbung nach NAKANISHI[114] folgerte. Eine gewisse Schädigung der Leukocyten ist aber auch in diesen Versuchen nicht ausgeschlossen und sogar ein Zerfall in einem nicht unbeträchtlichen Prozentsatz wird von TROMMSDORFF selbst zugestanden.

Eine von der BUCHNERschen in wesentlichen Punkten abweichende Anschauung vertritt METSCHNIKOFF[115, 119]. Auch er hält zunächst das Alexin für den die natürliche Immunität bedingenden Körper; allerdings ist er im Gegensatz zu BUCHNER der Ansicht, daß das Alexin keinen einheitlichen Stoff darstellt.

Nach seiner Meinung, zu der ihn vor allem die Arbeit seines Schülers GENGOU[120] veranlaßt, sind zwei Gruppen von Alexinen zu unterscheiden. Das bakterizide Alexin des Normalserums ist nach ihm ein Produkt der polynukleären Leukocyten (Mikrophagen), während die einkernigen großen protoplasmareichen Lymphocyten (Makrophagen) ein blutkörperchen- und zellenlösendes Ferment enthalten. Das Alexin im ganzen bezeichnet METSCHNIKOFF allgemein als Cytase und die beiden Arten entsprechend dem ihnen vindizierten Ursprunge als Mikrocytase und Makrocytase.

GENGOU erzeugte die (bakterizid) wirkenden mikrophagenhaltigen Exsudate durch Injektion von Glutenkasein in die Pleura von Hunden und Kaninchen; zur Gewinnung von makrophagenhaltigen Exsudaten injizierte er ausgelaugte Meerschweinchenerythrocyten.

Im direkten Gegensatz zu BUCHNER nimmt METSCHNIKOFF an, daß die Alexine unter normalen Bedingungen nie frei in den Körpersäften zirkulieren, sondern in Phagocyten eingeschlossen sind; im Organismus also sollen unter den normalen Bedingungen des Geschehens allein die Phagocyten zur Vernichtung der Keime befähigt sein, da im intakten Körper nach METSCHNIKOFF keine freien, im Blut zirkulierenden Alexine vorhanden sein können. Die bakterienvernichtende Wirkung des Serums ist nach METSCHNIKOFF auf den Austritt des Alexins aus den Leukocyten bei der Gerinnung zurück-

zuführen. Das zirkulierende Blut ist nach ihm vollkommen alexinfrei. Wäre diese Ansicht richtig, so müßten bezüglich der bakterienvernichtenden Kraft zwischen Blutplasma und Serum ganz bedeutende Differenz zugunsten des ersteren existieren.

Hahn[108], der Histonblut gewonnen durch Zusatz von Histonchlorhydrat nach Lilienfeld[121] zu Blut untersuchte, fand es ebenso bakterizid wie das Serum. Sawtschenko[122] beobachtete gleichfalls eine bakterienvernichtende Fähigkeit des mittelst Blutegelextrakt hergestellten Plasma. Metschnikoff, der bereits in eigenen Versuchen die Beobachtung gemacht hatte, daß Bakterien, die im Serum eines Tieres zerstört wurden, im Körper selbst, sofern sie durch ein (für Alexin permeables) Kollodiumsäckchen vor den Leukocyten geschützt waren, am Leben blieben, erkennt die Beweiskraft der Resultate von Hahn und Sawtschenko nicht an. Er stützt sich auf Versuche Gengous[123], der die Gewinnung des Plasmas mittelst einer einwandfreieren Methode möglichst den natürlichen Verhältnissen entsprechend zu erreichen suchte, indem er das Blut nach einem von Bordet und ihm[124] angegebenen Verfahren in paraffinierten Gefäßen auffing. Hier, wo ein Untergang von Leukocyten ausgeschlossen war, konnte er beim Blut von Hunden gegenüber V. Cholera und V. Metschnikoff, bei dem von Ratten gegenüber B. anthracis und bei dem des Kaninchens gegenüber B. anthracis, coli, Typhus und Cholera keine Bakterienvernichtungen nachweisen, während das Serum meist ausgesprochene Bakterizidie entfaltete.

Die Differenzen sind allerdings in den Versuchen Gengous keineswegs so konstant und scharf ausgesprochen, daß sie die weitgehenden Folgerungen, die die Metschnikoffsche Schule daraus zieht, rechtfertigen, zumal die Versuche von Gengou nicht ohne Widerspruch von seiten namhafter Autoren geblieben sind.

Petterson[125], v. Dungern[126], Hewlett[127] und Lambotte[128] konnten die Resultate Gengous in keiner Weise bestätigen. In Versuchen Pettersons, in denen die Blutflüssigkeit durch Zusatz von Kaliumoxalat (1 Prom.) und Calciumcitrat (2 Proz.) vor der Gerinnung bewahrt wurde, erwies sich bei Hund und Kaninchen das Plasma gegenüber Typhus und Coli stets wirksamer als das mit den gleichen Mengen der gerinnungshemmenden Substanzen versetzte Serum der betreffenden Tiere. Bei Rind, Katze, Schaf, Pferd wirkte das Serum zuweilen stärker. (Löwit & Schwarz erhielten ähnliche Resultate wie Petterson, doch halten sie die Methode nicht für einwandsfrei zur Entscheidung der vorliegenden Frage.)

Dies differente Verhalten bei den einzelnen Tierarten erklärte sich nach Petterson daraus, daß bei den einzelnen Tierspecies in wechselndem Grade einerseits nach Austritt des Blutes aus dem Tierkörper durch Leukocytenzerfall Alexin frei werden kann, andererseits bei der Gerinnung Alexin durch das Fibrin absorbiert wird. Ferner können aus den roten Blutkörperchen Nährstoffe ins Serum übertreten, die zum Teil die Wirkung des Alexins paralysieren.

Hewlett fand gleichfalls zwischen Peptonplasma (bei Zusatz geringer Mengen von Pepton zum Blut) und Serum kaum eine Differenz in der Bakterizidie. Ebenso war reines Gänseplasma und -serum bezüglich der Bakterizidie gleichwertig.

v. Dungern fand zwischen Serum und Plasma des Haifisches (Scyllima canicula) keine Differenz bezüglich der Intensität der bakteriolytischen Fähigkeit.

Lambotte konstatierte mittelst einer der von Bordet-Gengou analogen Methode einen gleichen Alexingehalt von Serum und Plasma bei Huhn, Hund und Pferd für Choleravibrionen.

Falloise[129, 130], zum Teil mit Dubois[131], haben gleichfalls in sehr sorgfältigen Untersuchungen, namentlich auf Grund von Versuchen am überlebenden mit Blut gefüllten Gefäß gezeigt, daß die bakterizide Kraft von Serum und Plasma gleich ist.

Auch Schneider[132] kam zu demselben Resultat. Sein Plasma war auch auf Mangel an Anthrakozidin geprüft, welches erst bei Zerfall von Leukocyten und Blutplättchen entsteht, entsprach also sicher den natürlichen Verhältnissen.

Much[133] fand bezüglich des Pneumococcus ein umgekehrtes Verhältnis als man es sonst zu beobachten pflegt, nämlich, daß das Serum

des Menschen ohne jede bakterizide Wirkung ist, daß Blut und Plasma dagegen bakterizid wirken.

Dold[134] konnte das bestätigen. Das Blut von Maus und Kaninchen hat keine bakteriziden Eigenschaften. Dold glaubt, daß die abtötenden Stoffe mit den Leukinen Schneiders identisch sind.

Auch die Hämolysinforschung (näheres siehe das betr. Kapitel) hat eine große Menge von Tatsachen zutage gefördert, die unbedingt das Vorkommen von „Alexin" im Blutplasma beweisen (Rehns[135], Ascoli[136], Wolff[137], Gruber[138], Růžička[139], Dömeny[140], Bellei[141]) (entgegengesetzte Befunde von Sawtschenko[142], Levaditi[143], Herman[144], Mioni[145], Walker[146]), — so daß danach schon die ganze Metschnikoffsche Anschauung als widerlegt zu betrachten ist.

Wäre die Theorie Metschnikoffs richtig, so müßte auch folgegerecht die Bakteriolyse überall da ausbleiben, wo physiologisch keine Leukocyten vorhanden sind, d. h. nach Metschnikoffs Ausdrucksweise kein Alexin infolge der durch das Experiment gesetzten Schädigung der Leukocyten austreten kann. Entsprechend dieser Voraussetzung soll in der Tat die Bakteriolyse im Glaskörper des Auges und dem Unterhautfettgewebe nicht zustande kommen. Es hat sich jedoch keineswegs die Richtigkeit dieser Beobachtung ergeben, wie bei Besprechung der spezifischen Immunität näher ausgeführt werden soll.

Ebenso wie die bakterizide Wirkung des Serums nach Metschnikoff eine Folge artifiziellen Leukocytenzerfalles ist, gilt dieses auch nach ihm für die Erscheinungen der Bakteriolyse in der Peritonealhöhle immuner Tiere.

Dieses nach seinem Entdecker R. Pfeiffer[147] benannte Phänomen soll nach Metschnikoff beim Normaltier dadurch zustande kommen, daß das Alexin erst bei der Injektion der Bakterien infolge eines schädigenden Einflusses der Suspensionsflüssigkeit (Bouillon, 0,8-proz. Kochsalzlösung) auf die vorhandenen Leukocyten frei wird. Dieser Vorgang der Phagocytenzerstörung, den Metschnikoff mit dem Namen Phagolyse belegt hat, ist besonders durch die Untersuchungen seiner Schüler Isaeff[148] und Pierallini[149] aufgedeckt worden, sodann von Gruber & Durham[150] und von Wolff[151] näher studiert.

Nach den Untersuchungen der Metschnikoffschen Schule soll nun die Phagolyse, das ist die Zerstörung der Leukocyten, ausbleiben, wenn durch einige Zeit vorher stattgehabte Injektion von Bouillon oder einer anderen Flüssigkeit eine Leukocytengeneration im Peritoneum geschaffen wird, die gegenüber der Phagolyse widerstandsfähiger ist. In diesem Falle kommt nach Metschnikoff bei nachheriger Bakterieninjektion das Pfeiffersche Phänomen nicht zustande; die Bakterien werden vielmehr ausschließlich von Phagocyten aufgenommen.

Durch vorherige Injektion von Opium vermochte Cantacuzène[152] die natürliche Widerstandsfähigkeit von Tieren gegenüber einer intraperitonealen Infektion aufzuheben; er erklärt diese Tatsache mit einer Lähmung der Phagocyten, durch die ihre Einwanderung ins Peritoneum und die Ausübung ihrer aktiven Tätigkeit gehemmt sein soll.

Nach Grubers & Durhams Untersuchungen und denen von Wolff findet bei der Phagolyse Metschnikoffs überhaupt kein oder nur ein minimaler Zerfall von Leukocyten statt; es handelt sich vielmehr nur um eine Zusammenballung und Ablagerung der zusammengeballten Leukocyten auf den Peritonealflächen. Zudem aber sind die Leukocyten, die in der Peritonealhöhle sich finden, gar keine polynukleären „Mikrophagen", die nach Metschnikoff, Gengou usw. allein bakteriolytisches Alexin liefern, sondern mononukleäre große hyaline Zellen („Makrophagen") neben eosinophilen Lymphocyten.

Pfeiffer[153, 154], sowie Ascher[155], die die Angaben Metschnikoffs einer Nachprüfung unterzogen, konnten auch unter Anwendung aller von Metschnikoff angewandten Kautelen dessen Resultate in diesem Falle nicht bestätigen.

Auf diese Verhältnisse wird noch näher bei Besprechung der künstlichen Immunität eingegangen werden.

Insoweit stimmen, wie sich aus dem Voraufgehenden ergibt, Metschnikoff und Buchner trotz prinzipieller Gegensätze überein, daß beide die bakterienvernichtenden Eigenschaften des Blutes mit den Leukocyten in enge Beziehung bringen.

Pfeiffer sowie Moxter[156, 157] dagegen konnten im Gegensatz sowohl zu Buchner wie zu Metschnikoff keineswegs einen Zusammenhang der bakteriziden Eigenschaften mit den Leukocyten beobachten.

Metschnikoff führt diesen Widerspruch darauf zurück, daß Pfeiffers Exsudate „makrophagen"haltig gewesen seien, und daß diese Zellen kein bakterizides, sondern ein cytolytisches Vermögen besitzen. Es ist jedoch daran zu erinnern, daß bei den Versuchen Pfeiffers steriler Abzeßeiter zur Anwendung kam, der auf die Injektion von Cholerabacillen bei Ziegen sich bildete und also, da er bakteriellen Ursprungs war, nach Metschnikoff gerade aus Mikrophagen bestehen mußte.

Die Untersuchungen der beiden genannten Autoren sind nicht die einzigen geblieben, die die Lehre vom Zusammenhang der Leukocyten mit den Alexinen sowohl im Sinne der Metschnikoffschen Theorie wie nach der allgemeineren Auffassung Buchners ins Wanken brachten. Es liegen eine große Reihe von weiteren Arbeiten vor, die keineswegs für einen Zusammenhang der Alexine mit den Leukocyten sprechen; diese Untersuchungen beziehen sich auf die Wirksamkeit der Extrakte von Organen, speziell derjenigen, die als Bildungsstätten der Leukocyten anzusehen sind.

Metschnikoff, der, wie bereits erwähnt, zwei Arten des Alexins unterscheidet, hält entsprechend dieser oben besprochenen Annahme, vor allem auf Grund der Experimente Gengous, die Extrakte der makrophagenhaltigen Organe für hämolytisch, die der mikrophagenreichen Organe für bakteriolytisch wirksam. Die „Cytase"-Natur und Identität mit den entsprechenden Stoffen des Serums schließt Metschnikoff aus der von ihm beobachteten Thermolabilität (Inaktivierung durch $^3/_4$-stündige Erwärmung auf 56°). Die Untersuchungen Metschnikoffs wurden hinsichtlich der hämolytischen Makrocytase von Shibayama[158] und Klein[159] im wesentlichen bestätigt.

Auch Tarassévitsch[160], der die Untersuchungen im Laboratorium Metschnikoffs weiterführte, fand gleichfalls nur die Extrakte der mikrophagenhaltigen Organe (besonders Knochenmark) bakterizid, während aus den makrophagenhaltigen Organen (Omentum, Mesenterialdrüsen, Milz) sich kein bakteriolytisch, sondern nur ein hämolytisch wirkender Extrakt gewinnen ließ. Es zeigten sich jedoch bereits in den Versuchen Tarassévitschs auch häufig Abweichungen von dem geschilderten Verhalten, indem die lytische Fähigkeit von Serum und Organextrakten beträchtliche Differenzen aufwies.

Alsdann hat Schattenfroh[100] trotz der Resultate Buchners und Metschnikoffs ernste Bedenken gegen ihre Schlußfolgerungen erhoben. Er zog aus seinen Versuchen nicht den unbedingten Schluß, daß die bakterientötenden Stoffe der Leukocyten mit den Alexinen identisch seien; denn die Stoffe der Leukocyten sind hitzebeständiger als die des Serums; erstere werden bei $^1/_2$-stündigem Erhitzen auf 60°, letztere erst bei einer Temperatur von 80—85° zerstört. Diese Differenz wäre immerhin noch unter der Annahme, daß die Alexine in den Zellen in einer wirksameren Modifikation vorhanden sind, zu erklären. (Bail hat übrigens neben diesen relativ thermostabilen noch thermolabile Stoffe in den Leukocyten beobachtet.)

Wichtiger erscheinen die Beobachtungen Schattenfrohs, daß in der Wirkung von Leukocytenextrakten und Serum der betreffenden Tierspecies keineswegs immer Konkordanz besteht. Schattenfroh sah Sera, die z. B. auf Cholerabakterien stark bakterizid wirkten, während der entsprechende Leukocytenauszug fast wirkungslos war.

Ferner konnte er in einer weiteren Arbeit[101] die Unabhängigkeit der bakterienvernichtenden Fähigkeit der Leukocytenextrakte vom Salzgehalte im Gegensatz zum Serum demonstrieren. Vor allem aber wirken die Leukocytenextrakte nicht hämolytisch. Er sieht die Tatsache, daß die Leukocyten die Quelle der

Alexine darstellen, keineswegs als erwiesen an, eine Ansicht, der sich auch LANDSTEINER[161], sowie GRUBER[162] und später die meisten Autoren anschließen.

PETTERSON[163, 164] hat dann in einer Reihe von Arbeiten eingehende Untersuchungen über die keimtötende Fähigkeit der Leukocyten und ihrer Extrakte angestellt und er kommt zu der Anschauung, daß die Leukocyten wohl keimtötende Stoffe enthalten, daß diese aber von denen des Serums, also von den Alexinen, zu trennen sind. Diese Substanzen stehen im innigsten Zusammenhange mit den Zellen und werden, so lange diese unbeschädigt sind, nicht oder nur spurweise abgegeben; während die Alexine offenbar leicht von ihrer Mutterzelle sezerniert werden und schon bei geringem Reiz in das flüssige Blut austreten. PETTERSON sowie sein Schüler KLING[165] finden folgende Unterscheidungsmerkmale zwischen ihren Endolysinen und den Alexinen.

1. Die Endolysine sind hitzebeständig (PETTERSON, KLING, ZINSSER[166]). Sie werden erst bei 65° zerstört, getrocknet aber vertragen sie selbst Temperaturen von über 100°.

2. Sie wirken bedeutend langsamer.

3. Sie werden vom Pukallfilter nicht zurückgehalten.

4. Behandlung mit Aether schwächt die Bakteriolysine, nicht aber die Endolysine.

5. Röntgenstrahlen zerstören die Endolysine, nicht aber die Bakteriolysine.

Um die Endolysine aus den polymorphkernigen Leukocyten in Freiheit zu setzen, bedarf es eingehender Eingriffe, wie eine halbstündige Erwärmung in Bouillon bei 50°, Einwirkung schwacher Salzsäure oder Natronlauge, Gefrierenlassen und Wiederauftauen. Uebrigens haben auch GRUBER & FUTAKI speziell beim Milzbrand keimtötende Stoffe in den Leukocyten nachgewiesen, die sie für verschieden von denen des Serums halten. Sie sehen sie aber als echte Sekrete an. PETTERSON hält diese Anthrakozidine von GRUBER & FUTAKI wegen der Differenz in dem Verhalten nicht für identisch mit den Endolysinen (s. auch S. 325).

Auf Grund sehr sorgfältiger und umfassender Untersuchungen nimmt SCHNEIDER[168] in den polymorphkernigen Leukocyten besondere bakterizide Stoffe an, die durch eine vitale Tätigkeit der Leukocyten auf gewisse Reize hin sezerniert werden (sowohl in vivo wie in vitro). Diese Leukine haben einen größeren Wirkungbereich als die bakteriziden Stoffe des Serums. Sie sind mit dem Komplement nicht identisch. Die Leukocyten sind nach SCHNEIDER nicht die Quelle des Alexins.

WEIL[169] nimmt in den Leukocyten besondere komplementäre Stoffe an, die aber von dem Serumkomplement sich dadurch unterscheiden, daß sie thermostabil sind und nie in das Serum übergehen.

Den Immunkörper des Serums, der mit diesen Leukocytenstoffen reagiert, bezeichnet WEIL als „leukotaktischen" Immunkörper. Solche leukotaktischen Immunkörper fand TSUDA[169a] gegenüber dem Heubacillus und Milzbrandbacillus im Serum des Meerschweinchens und Huhnes. Die Fähigkeit der Leukocyten, ohne Phagocytose und ohne spontane Sekretion bakterizider Stoffe Bakterien zu vernichten, bezeichnet WEIL als „Aphagozidie" oder aphagozide Leukocytenwirkung. Er untersuchte diese speziell bei Meerschweinchen und Ratten gegenüber dem Schweinerotlaufbacillus.

Die aphagozide Wirkung der Meerschweinchenleukocyten ist sehr stark; sowohl in aktivem, inaktivem als auch in mit Bakterien erschöpftem Serum. Die aphagoziden Stoffe werden weder spontan noch durch künstliche Eingriffe (Erfrieren) abgegeben; sie sind thermolabil. Im Gegensatz zum Meerschweinchen gibt die Ratte diese Stoffe nur in geringem Maße und nur an aktives Rattenserum ab.

Aus diesem verschiedenen Verhalten schließt Weil die Unempfindlichkeit des Meerschweinchens und die Empfindlichkeit der Ratte gegenüber Schweinerotlauf.

Weil unterscheidet speziell bezüglich der Wechselwirkung zwischen Serum und Leukocyten die folgenden Typen:

„Typus I. Serum bakterizid unwirksam. Leukocyten wirken stark in allen Aufschwemmungsflüssigkeiten (in aktivem und inaktivem Serum, in Bouillon und Kochsalzlösung), hierher gehören manche Stämme von Proteus (Petterson), Milzbrand beim Huhn, Schweinerotlauf beim Meerschweinchen. Die Mikroorganismen dieses Typus zeichnen sich durch ihre völlige Apathogenität sowie durch die Unmöglichkeit einer Virulenzsteigerung aus.

Typus II. Serum bakterizid unwirksam. Leukocyten wirken am besten in aktivem Serum als Aufschwemmungsflüssigkeit, weniger stark in inaktivem Serum, Kochsalzlösung und Bouillon, in welchen Flüssigkeiten ihre Wirkung auch manchmal versagt. Die Leukocytenbakterizidie ist im ganzen schwächer als bei Typus I. Hierher gehören die von uns untersuchten Staphylo- und Streptokokken.

Typus III. Serum bakterizid wirksam. Leukocyten wirken in Kochsalzlösung, meist fehlt jegliche Bakterizidie in den übrigen Aufschwemmungsflüssigkeiten. Hierher gehört Cholera und Schweinepest. Diese Mikroorganismen besitzen oft eine geringe Anfangsvirulenz, die sich aber durch Tierpassagen steigern läßt.

Typus IV. Weder das Serum noch die Leukocyten entfalten eine stärkere bakterizide Fähigkeit, wohl aber beide vereint. Es handelt sich um eine komplexe Leukocytenbakterizidie, welche durch die Leukocytenstoffe und den leukotaktischen Serumimmunkörper zustande kommt. Hierher gehört der vom Verf. untersuchte Subtilisstamm, manche Milzbrandstämme und vielleicht Schweinerotlauf bei der Ratte. Dieser Wirkungstypus scheint ziemlich selten zu sein."

Mit den Resultaten Schattenfrohs sowie Pettersons, Grubers & Futakis, Weils usw. über die besonderen, Bakterien vernichtenden Körper in den Leukocyten, die sich von denen des Serums unterscheiden, stehen Versuche über die Eigenschaften von Organextrakten von Korschun & Morgenroth [170], Donath & Landsteiner [171], [172], Dömeny [173], Kyes & Sachs [174], Noguchi [175], Landsteiner & Ehrlich [176] in Uebereinstimmung.

Korschun & Morgenroth konnten zeigen, daß wenigstens die hämolytischen aus den Organextrakten gewonnenen Stoffe mit den Hämolysinen des Serums absolut nichts zu tun haben. Es handelt sich im Gegensatz zu diesen um Körper, die koktostabil, in Alkohol löslich und nicht komplex sind und ferner zur Antikörperauslösung nicht befähigt sind. Es sind das ähnliche Körper, wie sie Conradi [177] bei der Autolyse von Organen dargestellt hat.

Auch Donath & Landsteiner halten die Organextrakte von Metschnikoff, Tarassewitsch usw. nicht für identisch mit den lytischen Stoffen des Serums, namentlich, da die Organextrakte die Zellen desselben Tieres zu lösen vermögen, aus dessen Organen sie stammen („Autolysine").

Sie versuchten die Frage über den genetischen Zusammenhang von Zell- und Serumlysinen durch die Herstellung von spezifisch wirkenden Antiseris zu klären, ohne jedoch zu einem sicheren Resultat zu gelangen. Auch DÖMENY bestreitet die Richtigkeit der Resultate TARASSEWITSCHS.

LEVADITI[178] fand, daß bei längerdauerndem Mazerieren der Zellen die ausgelaugten Substanzen die von KORSCHUN & MORGENROTH beschriebenen Eigenschaften besitzen; dagegen zeigt der durch kurzdauernde Auslaugung (1—2 Std. bei Zimmertemperatur) makrophagenhaltiger Organe gewonnene Extrakt genau die gleichen Eigenschaften wie die Hämolysine des Serums.

KYES & SACHS, NOGUCHI, LANDSTEINER & EHRLICH vertreten die Ansicht, daß diese hitzebeständigen, hämolysierenden Stoffe Lipoide sind. Derartige Organextrakte haben auch eine bakterizide Wirkung. So hat BEYER[179] zuerst aus den Ovarien des Frosches mit Kochsalzlösung bakterizide Substanzen extrahiert. Er nahm zwei Bakteriolysine an, ein thermostabiles und ein thermolabiles. Die thermostabile Substanz war in Alkohol löslich. Die späteren Untersuchungen von LANDSTEINER[180] und seinen Mitarbeitern machen es aber wahrscheinlich, daß es sich hier gar nicht um zwei verschiedene Bakteriolysine handelt, sondern darum, daß ein an sich thermostabiles bakterizides Lipoid durch die in der Lösung vorhandenen Eiweißkörper thermolabil erscheint. BAIL & PETTERSON[181] fanden im Knochenmark verschiedener Tierarten Substanzen, die bakterizid auf Milzbrand wirkten, besonders aber dann, wenn sie einem an sich unwirksamen Serum wie dem Hühnerserum zugesetzt wurden. Sie vindizieren diesen aus dem Knochenmark extrahierbaren Substanz den Charakter eines Komplementes und nehmen im Hühnerserum den Ambozeptor an. LANDSTEINER & EHRLICH konnten die Befunde von BAIL & PETTERSON bestätigen. Sie fanden, daß schon die ätherlöslichen Bestandteile des Knochenmarks genügten, um aktivem oder inaktivem Hühnerserum bakterizide Eigenschaften zu verleihen. Die Erhitzung jeder der beiden Komponenten auf 58° schädigt die bakterizide Wirkung nicht, wohl aber die Erhitzung der Mischung auf die gleiche Temperatur. Auch sie vergleichen die Kombination Serum-Knochenmarklipoid mit der Kombination Ambozeptor-Komplement. Milzbrandtötende Stoffe fanden GRUBER & FUTAKI in den Leukocyten, besonders beim Huhn, sowie in den Blutblättchen. Auch in den Leukocyten des Kaninchens fanden sich derartige Stoffe, die besonders leicht durch Stauungslymphe extrahierbar waren.

FONTES[182] findet im Extrakt tuberkulöser, nicht aber normaler Lymphdrüsen eine Substanz, die TB. zerstört, NOGUCHI[183] kommt im Anschluß an ältere Versuche von KYES & SACHS zu der Ansicht, daß es sich bei den Organextrakten um die Wirkung von Seifen handelt (sowohl bei der Bakteriolyse wie bei der Hämolyse). Das gleiche nehmen LEVADITI[184], LANDSTEINER an. Verbindungen der Seifen mit Serum wirken ebenso wie die Extrakte + Serum nicht mehr lytisch (NOGUCHI, v. LIEBERMANN & FENYVESSY[185]). Diese Verbindung wirkt auf beladene Bakterien nach NOGUCHI gewissermaßen als ein Komplement, indem sie die beladenen Bakterien stärker löst als Seife allein native Bakterien.

Solche bakteriziden Körper, wie sie sich aus den Organen extrahieren lassen, spielen vielleicht auch bei der Abwehr der natürlichen Infektion eine Rolle.

ROSSANI[186] stellte Untersuchungen über das bakterizide Vermögen des Lungengewebes mit Prodigiosusbakterien an. Er fand es bei gesunden Meerschweinchen beträchtlich; durch Einwirkung der Kälte oder durch starken Temperaturwechsel, Bäder, Ermüdung, Staubin-

halation wird das bakterizide Vermögen der Lunge herabgesetzt. Alkohol in geringen Dosen erhöht es. Bei längere Zeit fortgesetzter subkutaner Darreichung des Alkohols ist das bakterizide Vermögen gleich oder etwas erhöht. Es sinkt, sobald die Alkoholgabe plötzlich unterbrochen wird. (Die Wirkung des Alkohols führt der Autor auf die Ausscheidung durch die Lungen zurück bzw. auf die dabei zutage tretende antiseptische Wirkung.)

Turo & Piy Suner[187] beobachteten, daß Cholerabakterien, in die Nieren des Hundes eingespritzt, sofort aufgelöst werden, nicht aber Typhusbacillen. Die letzteren gelangen jedoch bei Einspritzung in die Leber gleichfalls zur Auflösung.

Auch Albergo Beretta[187a] stellte Untersuchungen über die bakterizide Wirkung von Organen an.

Thermostabilere keimtötende Stoffe scheinen aber nicht nur in Organextrakten, sondern auch im freien Serum sich zu finden. So hat Pirenne[188] bezüglich der bakteriziden Wirkung des Rattenserums auf Milzbrand folgende Beobachtung gemacht. Die bakterizide Substanz wird durch eine Temperatur von 64° nicht zerstört, verschwindet aber nach Neutralisation des Serums. Sie ist resistent gegenüber der Filtration und dem Sonnenlicht während 14 Tagen und sie hält sich getrocknet bei 130°. Es handelt sich also nicht um ein Alexin.

Horton[189] konnte die Resultate von Pirenne bestätigen, fand aber, daß das Alter der Tiere einen gewissen Einfluß hat. Bei der erwachsenen Ratte ist die bakterizide Substanz gegenüber Milzbrand thermostabil. Erst durch 30 Minuten lange Erhitzung auf 68° wird sie zerstört. Bei den jungen Ratten hingegen (2 Monate alt) ist sie nicht thermoresistent. Sie wird bereits durch 58° zerstört.

Es ist an dieser Stelle noch eine Arbeit von Heim[190] zu erwähnen, der bei Reagenzglasversuchen die Ausscheidung bakterientötender Stoffe aus den Erythrocyten des Kaninchens beobachtete und deren Existenz auch in vivo in dem zirkulierenden Blute annimmt, da ja fortwährend rote Blutkörperchen zugrunde gehen.

Diese Stoffe unterscheiden sich von den Alexinen dadurch, daß sie in vitro in den ersten Stunden, in denen die Alexine wirken, noch nicht nachweisbar sind; erst wenn die Alexinwirkung geschwunden ist und wieder eine Vermehrung der Bakterien zu konstatieren ist, werden die Heimschen Körper aus den zerfallenden Erythrocyten frei und treten in Aktion.

[Neuerdings hat Heim[191] auch aus Muskelgewebe bei immunisierten Tieren derartige Stoffe speziell gegen Pneumokokken extrahieren können, was aber von Bezzola[192] entschieden in Abrede gestellt wird (Versuche an Choleravibrionen).]

Die bakteriziden Immunsera.

Es war bereits seit alters her bekannt, daß das einmalige Ueberstehen einer Krankheit in vielen Fällen dem Organismus einen Schutz ausschließlich dieser Krankheit gegenüber gewährt.

Durch die grundlegenden Arbeiten Pasteurs wissen wir, daß das gleiche Ziel durch die Verimpfung virulenter oder abgeschwächter Krankheitserreger erreicht wird.

Durch die Untersuchungen von Ehrlich[193, 194] über die Immunität gegen gewisse Pflanzengifte (Ricin und Abrin) und die gleichzeitigen Untersuchungen Behrings[195, 196] über die Immunität gegen Tetanus und Diphtheriegift erhielten diese Tatsachen zum erstenmal eine wissenschaftliche Begründung.

Behring & Kitasato[197] zeigten, daß die Immunität von Kaninchen und Mäusen, die gegen Tetanus oder Diphtherie immunisiert sind, auf der Fähigkeit der zellfreien Blutflüssigkeit beruht, die toxischen Substanzen, welche die Tetanusbacillen produzieren, unschädlich zu machen.

Es entsprach dem menschlichen Analogiebedürfnis, auch für andere Schutzsera die Gegenwart derartiger giftparalysierender Antitoxine nachzuweisen. Grundbedingung schien zu sein, daß die pathogenen Bakterienarten, die zur Erzeugung der betreffenden Sera gedient hatten, ein ähnliches Gift wie die Diphtheriebacillen produzieren, was ja die Conditio sine qua non zur Bildung des Antitoxins darzustellen schien.

Es zeigt sich jedoch, daß bei einer Reihe anderer Bakterienspecies die Verhältnisse anders lagen. Diese Verhältnisse wurden vor allem am Choleravibrio ermittelt, der den Prototyp für diese Gruppe von Bakterien darstellt.

Die Natur des Giftes von Bakterien vom Typus des Choleravibrio.

Nachdem schon im Jahre 1884 R. Koch[198] die Symptome der Cholera im Stadium algidum für Vergiftungserscheinungen angesprochen hatte und Cantani[199] zuerst die Vermutung geäußert hatte, daß die Intoxikationssymptome durch die Resorption von Giftstoffen entstehen, welche in den Cholerabacillen selbst enthalten sind, suchte R. Pfeiffer[200] die vermuteten Gifte in den Bakterien selbst.

Diese Gifte sind in gewöhnlichen Kulturmedien fast unlöslich und unterscheiden sich also dadurch wesentlich von dem Diphtheriegift und seinen Verwandten, sie bilden vielmehr nach R. Pfeiffer einen integrierenden Bestandteil der Bakteriensubstanz.

Er nannte sie Endotoxine, ausgehend von der Vorstellung, daß sie erst bei der Auflösung der Bakterien, sei es durch ein spezifisches Serum, sei es durch künstliche Lyse (chemische, physikalische Einflüsse) in Freiheit gesetzt würden.

Die von Pfeiffer gefundenen bedeutsamen Tatsachen wurden durch die gleichzeitigen Arbeiten von Gamaleïa[201] in umfassender Weise bestätigt, aber von verschiedenen Seiten bekämpft (Gruber & Wiener[202], Scholl[203], Hueppe[204], [205], Klein[206], Hammerl[208], Metschnikoff, Roux, Taurelli & Salimbeni[209], Behring & Ransom[210], Emmerich & Tsuboi[211]). Es kann an dieser Stelle nicht ausführlich auf diese Arbeiten eingegangen werden. Jedoch konnten Pfeiffer, sowie Zenthöffer[207], Klemperer[212] u. a. durch weitere Untersuchungen die Einwände gegen die Pfeiffersche Anschauung widerlegen.

Dagegen sind auch neuerdings immer wieder Bestrebungen hervorgetreten, die Unterschiede zwischen den Erregern der echten Toxikosen, Diphtherie, Tetanus, Botulismus einerseits und den übrigen Bakterieninfektionen zu verwischen und auch bei letzteren die Erzeugung echter sezernierter Toxine im Krankheitsprozesse anzunehmen. A priori sollte freilich schon das ganze Krankheitsbild bei den echten Toxikosen mit seiner lokalen Ansiedlung geringer Bakterienmengen und die mehr oder weniger schrankenlose Vermehrung bei den echten Infektionen dafür sprechen, daß es sich hier um ganz verschiedene Verhältnisse handelt. Besonders waren es Brau & Denier[213], [214] sowie Kraus und seine Mitarbeiter[217–220] die bei der Cholera die Bildung eines echten Toxins auch beim Infektionsprozeß annahmen. Sie wurden vor allen Dingen dazu veranlaßt durch die Untersuchungen gewisser dem Cholerabacillus zum mindesten sehr nahe stehender Vibrionenstämme, die tatsächlich akut wirkende „echte" Toxine und Hämotoxine zu bilden vermögen. Besonders eingehend sind hier eine Reihe von durch F. Gotschlich[215] in El Tor gezüchteter Vibrionenstämme untersucht, vgl. auch E. Gotschlich[216]. Diese verhalten sich nach Kraus & Prantschoff[217], [218], Kraus & Pribram[219], [220] bezüglich der Agglutination und Bakteriolyse wie echte Cholerastämme, bilden aber, wie gesagt, ein akut tödliches Toxin und ein hämolytisches Toxin und diese Toxine sind identisch mit denen vieler anderer Vibrionen (Nasik, Metschnikoff, Danubicus, Finkler-Prior, Massaua), die sich doch kulturell und morphologisch von der echten Cholera unterscheiden. (Das akut wirkende Gift des El-Tor-Vibrio wird vom Antitoxin des Vibrio Nasik neutralisiert. 32 weitere von F. Gotschlich in El Tor isolierte Stämme bilden ebenfalls Toxin, doch sind sie durch Agglutination und Bakteriolyse von Cholera und den sechs typischen El-Tor-Stämmen zu trennen. Andererseits neutralisiert

das Antihämotoxin der sechs El-Tor-Stämme das Hämotoxin der meisten übrigen El-Tor-Vibrionen und umgekehrt.

Nach Huntemüller[221] bilden im Gegensatz zu Biedl & Kraus auch die meisten echten Cholerastämme Hämolysin.

Dieses hämolytische Gift des Cholerabacillus ist ein echtes Toxin, gegen das sich Antitoxin darstellen läßt.

Auch beim Typhus wurde namentlich in den älteren Kulturen das Auftreten von echten Toxinen behauptet von Aronson[222], Moreschi[223], Kraus & v. Stenitzer[224] u. a. Es ist aber wohl wahrscheinlich, daß es sich bei allen diesen Giften nur um in Lösung gegangene Bestandteile der Bakterienleibessubstanz handelt. Sicher liegen die Verhältnisse zum mindesten quantitativ ganz anders als beim Diphtheriebacillus.

Es schien, daß die Gruppe von Bakterien, zu denen Typhus und Cholera gehören, entsprechend dem andersartigen Charakter ihres Giftes auch eine Immunität hervorrufen mußte, die von der antitoxischen verschieden war.

Schon nachdem es im Jahre 1888 Richet & Héricourt[225] gelungen war, Kaninchen gegen Staphylokokken durch Injektion von defibriniertem Blut von Hunden, die mit dieser Bakterienspecies vorbehandelt waren, zu immunisieren, hatten Charrin & Gamaleïa[226] gefunden, daß mit B. pyocyaneus, Vibrio Gamaleia, Vibrio Cholerae immunisierte Tiere gegenüber den betreffenden Bakterien wohl geschützt waren, aber deren löslichen Giften gegenüber empfänglicher waren als Normaltiere, also kein Antitoxin in ihrem Serum enthielten.

Emmerich & Mastbaum[227] konstatierten dann, daß das Blut von mit Schweinerotlauf immunisierten Kaninchen Mäuse und Kaninchen vor der Infektion zu schützen imstande war. Diese Immunität wurde auf bakterienfeindliche Substanzen zurückgeführt, über deren Natur man sich damals keine rechte Vorstellung machte.

Metschnikoff[228] hat gezeigt, daß das Serum von mit dem Erreger der Hogcholera geimpften Kaninchen normalen Tieren Schutz verlieh, ohne ein Antitoxin zu enthalten. Er bezeichnet den darin wirksamen Schutzkörper als „Substance préventive".

Analoge Resultate erhielten Wassermann[229], Pfeiffer & Wassermann[230], sowie R. Pfeiffer[231] bei der Immunisierung von Meerschweinchen gegen Cholera, wie sie zuerst von Brieger, Kitasato & Wassermann[232] ausgeführt wurde und von diesen Autoren ursprünglich für antitoxisch gehalten worden war. Nach den Untersuchungen von Pfeiffer & Wassermann jedoch wirken die im Serum von choleravaccinierten Tieren enthaltenen Schutzstoffe nicht wie die Diphtherieantitoxine auf ein Gift, das in dem Sinne ja nach den Autoren gar nicht für die Cholera existiert*).

Die gegen Cholera vaccinierten Meerschweinchen vertragen das Vielfache der Dosis letalis für normale Tiere tödlichen Dosis lebender Vibrionen nur deshalb, weil sie die Fähigkeit erworben haben, die eingebrachten Bakterien in ihrem Peritoneum rapide aufzulösen. Daß diese erworbenen Funktionen bakteriolytisch und nicht antitoxisch sind, konnten Pfeiffer & Wassermann dadurch zeigen, daß die vergiftende Dosis von abgetöteten Cholerabakterien für immunisierte und

*) Bei der intraperitonealen Impfung von Meerschweinchen hat man es nach Pfeiffer & Wassermanns Untersuchungen ganz in der Hand, je nach der Dosis (die natürlich mit Rücksicht auf die Virulenz relativen Schwankungen unterliegt) die Tiere an Giftwirkung (d. h. ohne Vibrionenbefund post mortem in der Bauchhöhle) oder an Infektion (d. h. mit einer kolossalen Vermehrung der injizierten Bakterien) sterben zu lassen.

Die abweichenden Versuche von Gruber, der infolgedessen den Vergiftungstod an Cholera beim Versuchstiere unter diesen Bedingungen ganz leugnete, sind durch Differenz in der Virulenz und der Dosis auf einfachste Weise zu erklären.

normale Tiere die gleiche war. Auch das nach LAZARUS[233,234] spezifisch wirksame Serum von Cholerarekonvaleszenten und das vielfach wirksamere Serum, das PFEIFFER durch die Vorbehandlung von Ziegen mit Cholerakulturen erhalten hatte, erlangen weder aktiv noch passiv irgendwelche antitoxische Eigenschaft im gewöhnlichen Sinne. Das Meerschweinchen gewinnt durch das wirksamste Choleraziegenserum keinen stärkeren Schutz gegen die Vergiftung mit den abgetöteten Kulturen, als durch das Serum normaler Ziegen.

Es gilt für die Choleragifte im PFEIFFERschen Sinne keineswegs das von EHRLICH für die Diphtherietoxine und -antitoxine aufgestellte Gesetz der Multipla, d. h. die a-fache Serummenge schützt nicht gegen die a-fache Giftmenge, „sondern es gibt eine obere Grenze der giftigen Bakteriensubstanz, die auch bei Injektionen der größten Serummengen nicht überschritten werden darf“ (R. PFEIFFER).

BRAU & DENIER, KRAUS und seine Mitarbeiter, BERGEL & MEYER[235] glauben, ausgehend von ihren Anschauungen, daß die Cholera- und Typhusbakterien ein echtes Toxin bilden, auch ein wahres antitoxisches Serum dargestellt zu haben. PFEIFFER & FRIEDBERGER[236], fanden aber, daß speziell das KRAUSsche sogenannte antiendotoxische Choleraserum keine entsprechenden Antitoxine enthält, sondern nur ein Antitoxin gegen das akut wirkende Gift im El-Tor-Bacillus. Aber auch hier übt das Antitoxin keinen nennenswerten Einfluß auf den Ablauf der Infektion aus, sondern auch das El-Tor-Serum wirkt im wesentlichen durch seine bakterizide Quote. Das El-Tor-Antitoxinserum von KRAUS & RUSS[237] versagt, entgegen der Angabe der Autoren, vollständig gegenüber den Endotoxinen des Choleravibrios. Auch gegen über der Cholera wirkt dieses Serum nur bakterizid; ebenso fanden PFEIFFER & FRIEDBERGER, daß auch das Antityphusserum von BERGEL & MEYER keinerlei antitoxische Wirkung besitzt.

BESREDKA[238] behauptet, durch seine besondere Vorbehandlung mit lebenden Mikroben, ein Serum zu erhalten, das die Endotoxine neutralisiert. Er verreibt zur Darstellung seiner löslichen Endotoxine von Typhus, Pest und Dysenterie die betreffenden Bakterien trocken mit Kochsalzlösung und fügt dann allmählich tropfenweise Wasser hinzu und mazeriert die Emulsion während einer Nacht. Dann wird zentrifugiert, beim Typhus nach vorheriger Erwärmung auf 60—62°, was aber bei der anderen Bakterienart nicht empfehlenswert ist. Das Typhusendotoxin ist am wenigsten giftig, das der Dysenterie am giftigsten. Die Endotoxine sind gegenüber der Hitze verschieden resistent. Das Pestendotoxin verträgt nur 70°, das der Dysenterie 80° und das des Typhus 127°.

LATINEANO[239] hat mit der eben beschriebenen Methode von BESREDKA auch aus dem Influenzabacillus ein Endotoxin erhalten. Das „Antiendotoxin“ soll sowohl gegenüber den Bacillenleibern wie gegenüber dem Bakterienextrakt wirksam sein. Man soll damit leicht 10—12 tödliche Dosen neutralisieren können.

Durch intravenöse Injektion von Ziegen mit einem mittels Behandlung von Typhuskultur mit flüssiger Luft gewonnenen „Toxin“ gelang MACFADYEN & ROWLAND[240, 241] die Darstellung eines Serums, das 10 tödliche Dosen neutralisierte, in einer Menge von 0,02 ccm. Auch sie halten ihr Serum für ein antiendotoxisches. (BESREDKA dürfte recht haben, wenn er die Immunisierung mit Vollbakterien der mit dem Impfstoff des Autors gleichstellt.)

MacFadyen findet, daß auf seine Weise gewonnenes Choleraendotoxin in seiner Giftigkeit abhängig ist von der Virulenz der Ausgangskultur. Sein Gift ist sehr wirksam für Meerschweinchen, Kaninchen und Ziegen. Beim Lagern wird es sehr stark abgeschwächt. Es ist thermolabil.

Eingehende Versuche, die mit dem antiendotoxischen Serum Besredkas neuerdings von Pfeiffer & Bessau[242] angestellt wurden, führten zu einer Bestätigung der Angaben dieses Autors, wonach dem Serum tatsächlich eine nicht unerhebliche giftneutralisierende Fähigkeit zukommt. Pfeiffer & Bessau erklären sie dadurch, daß unter der Einwirkung des Serums ein Abbau des Endotoxins in ungiftigere Spaltprodukte statt hat, ähnlich wie das die Untersuchungen von Friedberger[243], Friedberger & Vallardi[243a] mit Anaphylatoxin aus Eiweiß in vitro dargetan haben.

Es sei hier nebenbei bemerkt, daß Petterson dem Immunserum im wesentlichen nur die bakteriolytische Funktion zuschreibt, die Beseitigung der dabei entstehenden Endotoxine aber in die Leukocyten verlegt.

Wie sich aus den obigen Ausführungen ergibt, hatte man seither zwischen antitoxischen und bakteriziden Seris einen prinzipiellen Unterschied gemacht und angenommen, daß einzelne Bakterienspecies nur antitoxische, andere nur bakterizide Sera zu produzieren imstande seien. Indessen gibt es hier vielfache Uebergänge. So haben bereits die Arbeiten von Roux, Metschnikoff & Salimbeni bezüglich der Cholera und die Wassermanns[244] bezüglich des Pyocyaneus gezeigt, daß sich auch mit Bakterienspecies, die für gewöhnlich typische bakterizide Sera liefern, antitoxische Sera gewinnen lassen, umgekehrt ist auch mittels des die Bildung antitoxischer Sera auslösenden Diphtheriebacillus Klein[245], van de Velde[246], Lambotte[247], Bandi[248], Wassermann[249], Schwoner[250] u. a. die Erzeugung antibakterieller Sera gelungen. Nach Lipstein[251] entstehen keine bakteriziden Immunsera bei der Vorbehandlung mit Diphtheriebacillenleibern. Doch nimmt auch Sauerbeck[252] neuerdings in Diphtherieserum einen bakteriolytischen Ambozeptor an; Wirksamkeit bei Komplementzusatz. Kleine Mengen machen Phagocytose, große Mengen auch Bakteriolyse. Nach Okkubo[253] findet sich gleichfalls im Diphtherieserum ein komplexer Antikörper von Ambozeptortypus, der nur mit Komplement wirkt, doch soll er nur Phagocytose befördern, nicht bakteriolytische Funktion entfalten.

Ein Bacillus, der typisch in der Mitte steht zwischen den echten Toxinbildern und den reinen Infektionsbacillen, ist der Dysenteriebacillus.

Die Art des Serums, das mit einer Bakterienspecies erzielt wird, ist, wie besonders Wassermann[254] in dem Referat seines Vortrages auf dem Hygienekongreß in Brüssel annimmt, nicht so sehr abhängig von dem Mikroorganismus als solchem, wie vielmehr von der Art der Bakterienstoffe, mit denen wir ein Tier vorbehandeln. Bakterizide Sera sollen dann gebildet werden, wenn Leibessubstanzen der Bakterien zur Vorbehandlung gedient haben, antitoxische, wenn Sekretionsprodukte lebender Bakterien zur Immunisierung benutzt wurden.

Im letzteren Falle erhalten die Sera, wie Wassermann im antitoxischen B.-pyocyaneus-Serum, die vorerwähnten Autoren im antitoxischen Choleraserum nachweisen konnten, neben den antitoxischen auch stets bakterizide Schutzstoffe.

Es ist dies daraus zu erklären, daß stets Leibessubstanzen der Bakterien, wenn auch in geringen Mengen, in den toxinhaltigen Filtraten der betreffenden zur Immunisierung benutzten Bouillonkulturen enthalten waren; diese Stoffe genügten, um die Bildung der bakteriolytischen Antikörper anzuregen. NEISSER & SHIGA[255] bezeichnen derartige antigene Bakterienstoffe, die durch das Filter hindurchgehen, als „freie Rezeptoren".

Wenn also eine so strenge Trennung der verschiedenen Bakterienspecies unter den Bedingungen des Experiments bezüglich der Art der gebildeten Antikörper sich nicht durchführen läßt, so wird unter den Verhältnissen der natürlichen Infektion doch kaum jemals ein derartiges Verhalten eintreten, daß etwa bei einer Diphtherieinfektion ein Serum gebildet wird, das neben seiner antitoxischen Funktion nennenswerte bakterizide Fähigkeit besitzt, oder Serum eines Typhusrekonvaleszenten gegen die Toxine des Typhus eine ausgesprochene antitoxische Kraft aufweist.

Die oben gegebene Darstellung entspricht im allgemeinen den seitherigen Anschauungen.

Durch die neueren Ergebnisse der Anaphylaxieforschung dürften jedoch unsere Vorstellungen sowohl über die Endotoxine als auch über die antiinfektiöse Immunität, speziell den Wirkungsmechanismus der bakteriziden Sera, eine wesentliche Erweiterung erfahren*).

E. FRIEDBERGER und seinen Mitarbeitern[256/365] ist es zuerst gelungen, aus Bakterien ein akut tötendes Gift, „Anaphylatoxin", im Reagenzglas abzuspalten. Die Bildung dieses Giftes gelang auch im Tierkörper (FRIEDBERGER & NATHAN[257]) und es dürfte bei allen Infektionen eine wesentliche Rolle spielen. Die Untersuchungen von FRIEDBERGER beweisen, daß dem Bakterieneiweiß als solchem, gelöst oder ungelöst, primär keine so erhebliche Giftigkeit zukommt, wie man das früher allgemein annahm. Die akut tödliche Dosis der Leibessubstanzen vieler Bakterienarten ist z. B. für das Meerschweinchen kaum viel größer wie etwa die des artfremden Rinderserums. Es hat erst im Organismus unter der Einwirkung der Körpersäfte ein Abbau des Bakterieneiweißes, ebenso wie jeden anderen artfremden Eiweißes in das eigentliche Gift statt.

Diese Abspaltung gelingt schon im Reagenzglas und bis zu einem gewissen Grade auch schon durch Normalserum und es gelingt auch schon sogar mit Normalserum das gebildete Gift weiter in ungiftige Modifikationen abzubauen. Das geht jedoch nur bei Verwendung relativ kleiner Bakterienmengen. Bei größeren Bakteriendosen ist die Gegenwart von Immunserum, und zwar von nicht unbeträchtlichen Mengen von Immunserum, zur Entgiftung notwendig.

Es besteht also eine umgekehrte Proportionalität derart, daß die Giftbildung und die konsekutive Entgiftung durch weiteren Abbau um so leichter gelingt, je kleiner die Bakterienmenge im Verhältnis zur Immunserummenge ist. Mit diesem eingreifenden Abbau des Bakterieneiweißes geht naturgemäß die Abtötung und als sekundärer Vorgang die Auflösung der Bakterien parallel. Doch ist namentlich die Bakteriolyse als solche nicht von so ausschlaggebender Bedeutung (FRIEDBERGER, NEUFELD & DOLD[266a]), da die Giftbildung und partielle Entgiftung schon erfolgen kann, noch ehe man eine nennens-

*) Die nachstehenden Ausführungen sind zuerst in der Berl. klin. Wochenschrift, 1910, Nr. 32/42, veröffentlicht.

werte Auflösung der Bakterien sieht und die Giftbildung auch z. B. beim Tuberkelbacillus erfolgt, wo von einer sichtbaren Auflösung überhaupt nicht die Rede ist. Das Anaphylatoxin zeigt ausgesprochene Differenzen gegenüber dem Endotoxin. Es seien hier nach FRIEDBERGER als wesentlich genannt:

Die Endotoxine sind spezifisch und regen die Bildung spezifischer Antikörper an. Das Anaphylatoxin ist als einheitlich aufzufassen und spezifisch ist nur der Modus der Giftbildung.

Zum Freiwerden der Endotoxine ist nach R. PFEIFFER die Auflösung der Bakterien notwendig, ja man kann sogar in vitro durch unspezifische Lösung der Bakterien, z. B. in Chloroform, wie PFEIFFER gezeigt hat, das Endotoxin ohne weiteren Abbau direkt freimachen. Das Anaphylatoxin geht aber in Lösung, ohne daß dabei die Bakterien aufgelöst werden. (In vitro findet ja an sich nur eine geringe Granulabildung statt.)

Das Anaphylatoxin ist bedeutend intensiver wirksam und in kleineren Quantitäten als die „Endotoxine". Man kann z. B. einem Meerschweinchen intravenös eine halbe Kultur Typhusbacillen oder aufgelöste Typhusbacillen ohne Schaden einspritzen, während aus $^{1}/_{10}$ Oese der gleichen Kultur, und sogar aus gekochten Bakterien, die mit Immunambozeptoren beladen sind, aber auch schon durch die bloße Einwirkung von Komplementserum, eine derartig akut wirkende Giftdosis abgespalten wird, daß das artgleiche abzentrifugierte Serum ein Meerschweinchen innerhalb weniger Minuten tötet.

Der hauptsächliche Unterschied aber ist der, daß das Endotoxin spezifische Antikörper erzeugt, das Anaphylatoxin dagegen ein einheitliches Gift oder einheitliches Gemenge von Giften ist, zum mindesten mit vollkommen einheitlicher Wirkung. Diese Annahme eines allgemeinen Anaphylatoxins aus den verschiedensten Bakterienspecies steht nur scheinbar in Widerspruch mit dem für die Infektionskrankheiten so wohlbegründeten Spezifizitätsgesetz.

Spezifisch ist bei den Infektionskrankheiten eben nicht das einheitliche Gift, sondern spezifisch ist der Modus der Giftbildung. Nur dann kann aus einem bestimmten Antigen, also z. B. aus Bakterien, leicht das einheitliche Gift abgespalten werden, wenn, sofern nicht genügend normale Antikörper vorhanden sind, der homologe Antikörper durch die parenterale Gegenwart des betreffenden Antigens spezifisch vermehrt ist.

Die Ursache, weshalb das im Reagenzglas entstehende Gift im Organismus beim immunisierten Tier zum Teil nicht in gleicher Weise akut in Aktion tritt, ist, wie FRIEDBERGER hervorgehoben hat, wohl die, daß hier offenbar bei der intensiveren Wirkung aller in Betracht kommenden Faktoren auch wieder ein schnellerer Abbau des Bakterienanaphylatoxins in ungiftige Spaltprodukte statt hat, so daß nicht oder nur selten auf einmal eine tödliche Dosis des Giftes angehäuft ist, zu deren Bildung im Reagenzglas aber natürlich die Bedingungen günstiger liegen.

(Für die Richtigkeit dieser Auffassung spricht die Tatsache, daß ein Ueberschuß von Antieiweißserum bei konstanter Menge des Antigens die Ausbeute an Anaphylatoxin verringert, wofür als Ursache ein weiterer Abbau des Anaphylatoxins in ungiftige Modifikationen anzunehmen ist (FRIEDBERGER[243]). Zu analogen Resultaten führten spätere Versuche an mit Ambozeptor beladenen Bakterien. Damit

stehen in völliger Uebereinstimmung die Befunde von R. PFEIFFER & BESSAU[267], die gleichfalls bei ihren Heilversuchen mit Antityphusseris einen Abbau der Bakterien in ungiftige Spaltprodukte unter dem Einfluß des Antiserums annehmen.)

Andererseits ist auch bei einer Infektion wegen der durch den ständigen Verbrauch von Antikörpern bedingten partiellen Antianaphylaxie der Abbau, zumal wenn der Antikörpergehalt nicht sehr hoch ist, kein allzu intensiver, vielleicht auch die Komplementmenge oder die Zahl der Bakterien zu einem gegebenen Augenblick nicht so groß, daß eine tödliche Giftdosis entsteht. Ist aber die Dosis der Bakterien und Antikörper auf einmal genügend (akute Infektionen), so tritt wie bei der Eiweißanaphylaxie (das beweisen auch die Versuche über aktive und passive Bakterienanaphylaxie, FRIEDBERGER & MITA[260]) der Tod ein. Sonst haben wir, wie das bei den natürlichen Infektionen die Regel ist, eine Art chronischer protrahierter Anaphylatoxinvergiftung.

Die Verschiedenheiten der Krankheitsbilder finden völlig genügende und befriedigende Erklärung mit e i n e m Anaphylatoxin, das sich aus den verschiedensten Bakterien abspalten läßt. Ob daneben auch besondere spezifische Gifte für die einzelnen Infektionskrankheiten bestehen, sei dahingestellt; bewiesen ist es nicht und nötig ist ihre Annahme nicht.

Die Differenzen im Verlauf bei den einzelnen Infektionen sprechen nicht gegen diese Anschauung. Man kann sich vorstellen, daß ebenso wie die künstlich erzeugbaren „Eiweißkrankheiten“ (FRIEDBERGER) die einzelnen Infektionen zum Teil nur dadurch in ihrem Verlaufe differieren, daß das parenterale Mikroorganismeneiweiß verschieden lokalisiert ist, eine verschiedene Vermehrungsintensität besitzt, Antikörperbildung in quantitativ verschiedenem Grade veranlaßt und sich dem Abbau (der Anaphylatoxinbildung) gegenüber verschieden resistent verhält, Faktoren, durch die die Anaphylatoxinkurve und damit das Krankheitsbild selbst die verschiedensten Variationen erfahren kann.

Die Hauptsymptome im Verlauf der verschiedenen Infektionskrankheiten sind ja trotz der Mannigfaltigkeit der Krankheitsbilder im einzelnen immer dieselben und mit jenen identisch, die wir durch kleine Eiweißmengen beim präparierten Tier und auch mit Anaphylatoxin in kleinen Dosen hervorrufen können.

„Fieber, entzündliche Gewebsveränderungen und toxische Einwirkungen auf das Zentralnervensystem, das sind ja die Kardinalsymptome aller Infektionen, nur wenige Töne im Grunde, aus denen durch die mannigfachsten Variationen die verschiedenartigsten Melodien entstehen“ (FRIEDBERGER).

Wir sehen z. B., daß ganz verschiedene Krankheitserreger ein identisches Krankheitsbild erzeugen, wenn sie gleichartig lokalisiert sind und gleichartig sind in ihrem Wachstum und sonstigem biologischen Verhalten. Die Symptome von Cholera und Cholera nostras, obwohl durch zwei ganz verschiedene, einander fernstehende Bakterienarten, einen Vibrio und einen Bacillus, hervorgerufen, können so völlig identisch sein, daß eine Differentialdiagnose unter Umständen nur durch eine genaue bakteriologische Untersuchung möglich ist. Aber beide Mikroorganismenarten zeigen ähnliches Verhalten und sind an gleicher Stelle angesiedelt. Die Pneumonie kann sowohl durch den Bacillus Friedländer, wie durch den Pneumococcus erzeugt

werden, mit ganz analogen Symptomen, weil beide Male die Lokalisationsstätte der verschiedenen Erreger die gleiche ist.

Andrerseits sehen wir, wie ein und derselbe Bacillus, je nach seiner Lokalisation und seinem sonstigen biologischen Verhalten, ganz verschiedene Krankheitsbilder erzeugt.

Es sei nur an den Tuberkelbacillus erinnert, der bald allgemeine chronische Tuberkulose, bald akute Miliartuberkulose, bald lokale Affektionen hervorruft*).

Als einen Beweis für seine Theorie sieht Friedberger die Tatsache an, daß man wesentliche Symptome der verschiedensten Infektionskrankheiten beim präparierten Tier durch ein einheitliches, an sich ungiftiges Eiweiß erzeugen kann.

Es ergibt sich das vor allem aus den Fieberversuchen. Je nach der Dosis, der Zahl der parenteralen Injektionen, dem Intervall zwischen den einzelnen Einspritzungen und vor allem je nach dem Ort der Zuführung kann man mit einem einzigen an sich ungiftigen Eiweiß verschiedenste Fiebertypen experimentell erzeugen. Aus dem einen Eiweiß kann natürlich nur ein einheitliches Gift bzw. ein einheitliches Gemenge abgespalten werden, und daraus folgt, daß man die Verschiedenheit der Symptome keineswegs als ein Kriterium für eine Verschiedenheit der Gifte bei derartigen komplizierten biologischen Prozessen von vornherein anzusehen braucht.

Wie bei der enteralen Verdauung einheitliche Abbauprodukte aus den verschiedensten Eiweißkörpern sich bilden, so können wir annehmen, daß auch bei dem parenteralen Eiweißabbau ein einheitliches Gift oder Giftgemenge entsteht. Da die Bakterien bei der Infektion im Organismus nichts anderes sind, als parenteral vorhandenes Eiweiß, so ist es nicht einzusehen, weshalb nicht auch das aus den Bakterien entstehende Gift mit dem übrigen Anaphylatoxin identisch sein sollte.

Entsprechend den eben geschilderten Variationen, die man im Symptomenbild mit dem einheitlichen Gift aus einem einzigen Eiweißkörper erzeugen kann, dürfen wir annehmen, daß auch die Verschiedenheiten im Verlauf der einzelnen Infektionskrankheiten keineswegs die Annahme besonderer differenter, spezifischer Gifte notwendig machen. Wir können also mit jedem Eiweißkörper durch fortgesetzte Zufuhr kleiner Mengen, je nach Ort, Zeit und Dosis, gewissermaßen Modelle der verschiedensten Infektionskrankheiten künstlich reproduzieren**).

Auf Grund dieser Beobachtungen müssen wir wohl das Endotoxin mit seinem spezifischen Eiweiß und seiner spezifischen antigenen Qualität als die Muttersubstanz des Anaphylatoxins auffassen, welches letztere das eigentlich wirksame Gift bei der Infektion darstellt. Das zeigen besonders eklatant Versuche, die von Friedberger & Kumagai[268] mit der Methode von Magnus[269] am überlebenden Kaninchen-, Katzen- und Hundedarme mit Bakterienleibern, Extrakten („Endotoxinen") und Anaphylatoxinen aus Bakterien angestellt worden sind.

---

*) Auch bei den verschiedenen Tierspecies können die durch einen Erreger hervorgerufenen Krankheitsbilder je nach dessen Verbreitung usw. ganz verschieden sein.

**) z. B. eine künstliche Pneumonie durch Inhalation von Eiweiß beim homolog präparierten Tier.

Gerade auf den Darm sollen ja viele Bakterien bzw. ihre Leibessubstanzen besonders giftig wirken.

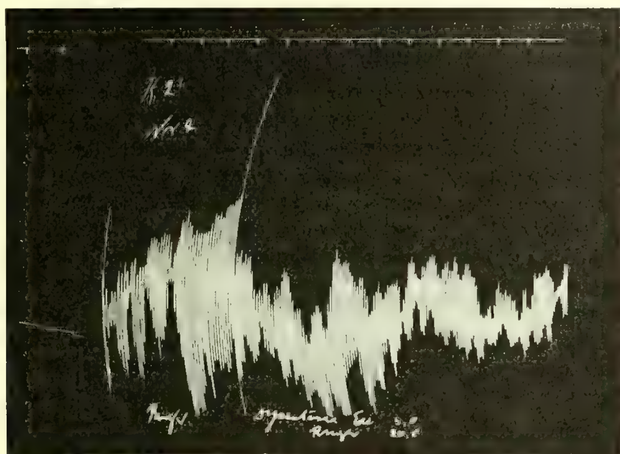


Fig. 1. Stück vom Dünndarm des Kaninchens, bei 37° fixiert gehalten. Die peristaltischen Bewegungen mittels Schreibhebel auf ein Kymographion übertragen. Bis * befindet sich das Darmstück in Ringerlösung, dann in Ringerlösung mit Extrakt von Dysenteriebacillen.

Unsere Untersuchungen ergaben nun, daß weder Typhus-, Cholera-, noch Dysenterie- (Shiga-Kruse) und andere Vollbakterien, noch deren Extrakte bzw. gelösten Leibessubstanzen auch nur die geringste Einwirkung auf den isolierten Darm normaler oder immunisierter Tiere haben. Das gilt auch selbst von dem Bacillus dysenteriae gegenüber dem Kaninchendarm, obwohl doch der Dysenteriebacillus in vivo für diese Tierspecies außerordentlich giftig ist.

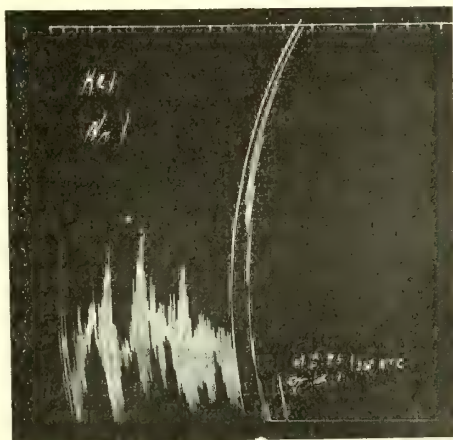


Fig. 2. Versuchsanordnung wie bei Fig. 1. Nur bei * die gleiche Menge desselben Dysenterieextraktes, jedoch nicht in Ringerlösung, sondern in Normalmeerschweinchenserum; fast momentaner Stillstand der Peristaltik. (Normalmeerschweinchenserum allein schädigt den Darm nicht nachweisbar.)

Dagegen rufen die erwähnten Bakterien (und andere von uns untersuchte) sofort die schwersten Vergiftungen (Störung der Peristaltik, Abtötung des Darmes) hervor, sobald vorher durch Digerierung mit Normalserum aus ihnen Anaphylatoxin abgespalten ist. Das zur Abspaltung benutzte arteigene Serum oder Meerschweinchenserum ist natürlich atoxisch auf den betreffenden Darm. Ebensowenig entsteht ein giftiges Produkt bei der Digerierung der gleichen

Mengen von Bakterien oder Extrakt mit inaktiviertem Serum. Analog verliefen Versuche am isolierten Froschherz, wie wir sie im Anschluß an frühere Experimente von Friedberger & Mita[270] auch mit Bakterien angestellt haben.

Die Versuche zeigen am überlebenden Organ eindeutig, daß die Bakterien bzw. ihre Leibessubstanzen („Endotoxine") an sich nicht giftig sind, sondern es erst unter dem Einfluß der tierischen Säfte (Normalserum) werden. Man kann gegenüber diesen Versuchen einwenden, daß sie nicht unter „physiologischen" Verhältnissen, sondern an einem künstlich überlebenden Organstück angestellt sind. Aber wenn selbst hier an einem geschwächten Organ die Bakterien und ihre gelösten Leibessubstanzen an sich keinerlei Wirkung entfalten, so dürften wir das im Organismus noch viel weniger annehmen.

Die Toxikosen stehen zunächst scheinbar außerhalb der im vorstehenden erörterten Betrachtungsweise, da es sich bei ihnen im Gegensatz zum Bakterieneiweiß um eine offenbar schon primär in sehr kleinen Dosen giftige Substanz handelt. Es gelang jedoch Friedberger & Mita[271] auch hier mit Tetanusgift, Friedberger & Kumagai[272] mit Schlangengift den Nachweis zu erbringen, daß auch das echte Toxin eine Entgiftung über ein noch giftigeres Zwischenprodukt unter dem Einfluß des Serums erfährt*). Diese Tatsache gestattet nun, die antitoxische Immunität mit der bakteriolytischen in Zusammenhang zu bringen.

Wir haben gesehen, daß auch bei Bakterien das gebildete Anaphylatoxin um so leichter entgiftet wird, je größer die Immunserummenge und je kleiner die Bakterienmenge ist. Es ist nun ohne weiteres klar, daß die Entgiftung über ein besonders giftiges Zwischenprodukt hinaus zu ungiftigen Spaltprodukten um so leichter gelingen muß, je kleiner bei einer gewissen konstanten Antiserummenge die Antigendosis ist. Daher ist die Entgiftung, so paradox das zunächst erscheinen mag, am vollständigsten gerade bei den besonders toxischen Eiweißkörpern, bei denen die als tödliche Dosis im biologischen Versuch oder in Praxis in Frage kommende Eiweißmenge eine sehr geringe ist.

Denn die Leichtigkeit der Entgiftung hängt ja danach nicht von der primären Giftigkeit ab, sondern von der relativen Menge des zu entgiftenden Eiweißes. Je kleiner die toxische Eiweißmenge ist (und gerade bei giftigem Eiweiß ist sie immer ja sehr klein), um so leichter ist die Entgiftung, die hier sogar ganz gesetzmäßig verlaufen kann, nämlich nach dem bekannten Ehrlichschen Gesetz der multiplen Proportionen.

Bei an sich relativ ungiftigem Eiweiß aber (Bakterienleiber, artfremde Sera höherer Tiere usw.) ist die tödliche Dosis natürlich eine enorm viel höhere und dementsprechend die Entgiftung durch Immunserum viel schwieriger. Hier kommt es meist nur bis zum partiellen Abbau in die akut toxischen Spaltprodukte (Anaphylatoxin).

Besonders tritt die völlige entgiftende Wirkung des Serums zutage bei den bakteriellen Toxinen und jenen artfremden Eiweißarten, die schon in minimalen Mengen giftig wirken, wie Schlangengift.

---

*) Schon de Waele[273], Dold & Ungermann[274] haben eine Beschleunigung der spezifischen Giftwirkung unter dem Einfluß von Komplement gesehen. nicht aber das Auftreten eines akut wirkenden Anaphylatoxins.

Aalserum usw. Daß aber hier der gleiche Abbauprozeß über noch giftigere, akut wirkende Spaltprodukte zu ungiftigen Körpern stattfindet wie beim Rinderserum, Pferdeserum usw., lehren unsere Versuche über die Abspaltung von Anaphylatoxin aus echten Bakterientoxinen. Sie haben gezeigt, daß sich auch aus Tetanusgift und Schlangengift*) durch Normalserum oder ungenügende Antitoxinmengen ein stark wirkendes akutes Anaphylatoxin erzeugen läßt, während durch große Dosen antitoxischer Sera bekanntlich völlige Entgiftung erfolgt.

Je ungiftiger jedoch ein Eiweiß an sich ist, um so größere Dosen man dementsprechend zur toxischen Wirkung nötig hat, um so schwerer ist die Entgiftung des dann reichlich entstehenden Anaphylatoxins auch durch große Mengen von Immunserum.

Deshalb kann man wohl gegenüber Bakteriengiften, Schlangengift, Aalserum usw. mit Antiserum leicht eine antitoxische Wirkung nach dem Gesetz der Multipla erzielen, nicht aber z. B. gegenüber Hammelserum. Wenn man aber bei relativ wenig giftigem Eiweiß nicht die *tödliche* Dosis zum Maßstab nimmt, sondern mit den minimalen *fiebererzeugenden* Mengen arbeitet, so gelingt es auch, bei derartigem Eiweiß durch Antiserum die Entgiftung nachzuweisen. Solche Versuche haben z. B. Friedberger & Mita[271] mit der fiebererregenden Dosis von Tuberkelbacillen und Antituberkuloseserum angestellt. Es ergab sich, daß es durch das Immunserum gelingt, allerdings bei Verwendung großer Mengen, die fiebererregende Wirkung genau nach denselben Gesetzmäßigkeiten zu neutralisieren, wie wir das bezüglich der tödlichen Dosis von Toxin durch das Antitoxin kennen.

Aber auch bei den gewöhnlichen Anaphylaxieversuchen kann man Analoges beobachten, wenn auch weniger eklatant. Die tödliche Reinjektionsdosis ist z. B. bei hoch mit Hammelserum immunisierten Meerschweinchen bedeutend höher als bei einmal immunisierten bei gleicher Inkubation.

Das Hauptergebnis unserer Untersuchungen ist also das folgende: *Es besteht keine scharfe Trennung zwischen antitoxischen Seris und gewöhnlichen Antieiweißseris. Die antitoxische Wirkung, d. h. die völlige Entgiftung kommt dann zustande, wenn die giftige Eiweißdosis eine kleine und damit der Abbau ein leichter ist.*

Ueber das Verhalten verschiedener Bakterienarten gegenüber der Bakteriolyse, speziell über die mikroskopischen Vorgänge bei der Auflösung der Bakterien im Peritoneum aktiv oder passiv immunisierter Meerschweinchen.

Die feineren Vorgänge bei der Bakteriolyse haben vor allem Pfeiffer, Isaeff, Kolle und Marx[275—284] in einer großen Reihe von Arbeiten namentlich bei Cholera- und Typhusinfektion aufgedeckt, sie haben zugleich die strenge Spezifizität dieses Prozesses dargetan.

---

*) Damit entfällt der von Aronson[274a] geäußerte Einwand, daß das Pepton des Tetanusgiftes für die Anaphylatoxinabspaltung verantwortlich zu machen sei, entsprechend der von Friedberger[274b] mitgeteilten Tatsache, daß auch bei Digerierung von Wittepepton mit Normalserum sich ein akut wirkendes Gift bildet.

Besonders gelang es R. Pfeiffer in Gemeinschaft mit Isaeff mittels sinnreich ausgedachter Methoden die Vorgänge im Organismus des aktiv oder passiv immunisierten Tieres Schritt für Schritt zu verfolgen. Die Untersuchungen wurden mit verschiedenen Bakterien vorgenommen, speziell aber mit Vibrionen, von denen wiederum der Erreger der Cholera besonders exakte Versuchsbedingungen gewährleistete. Auf diese Weise sind fast alle unsere Kenntnisse über die feineren Vorgänge bei dem Wirkungsmechanismus bakterizider Sera auf Grund von Untersuchungen an dieser Bakterienspecies gewonnen.

Injiziert man einem Meerschweinchen, das gegen Cholera aktiv vacciniert ist, das 5—10-fache einer sicher tödlichen Dosis, etwa eine Oese von 2 mg Fassungsgewicht einer virulenten Agarkultur in die Bauchhöhle oder impft man ein normales Meerschweinchen mit der gleichen Dosis, der eine ausreichende Menge Choleraimmunserum eines anderen Tieres zugesetzt ist, so kann man, wie das R. Pfeiffer zuerst gethan hat, die Veränderungen, die sich innerhalb der Bauchhöhle unter dem Einflusse der Sera abspielen, studieren, wenn man von Zeit zu Zeit mit Glaskapillaren Proben des Bauchhöhleninhaltes entnimmt. Man sieht dann, wie in allen Fällen, in denen ein genügender Schutz durch aktive oder passive Immunisierung erreicht ist, die injizierten Vibrionen rapide zugrunde gehen.

Die bakterizide Kraft des Choleraserums wurde beim cholerakranken Menschen zuerst von Lazarus beobachtet; seine Angaben erfuhren eine Bestätigung durch Wassermann [287], Metschnikoff [288], R. Pfeiffer [289], Sobernheim [290], Karwatzky [290a].

Die erhöhte Bakterizidie findet sich nach Metschnikoff während der Krankheit nur in 45 Proz. der Fälle. Der Hauptanstieg erfolgt erst in der Rekonvaleszenz (2.—4. Woche). Nach Sobernheim soll die Höhe des bakteriziden Titers dem Verlauf der Infektion parallel gehen (von Metschnikoff bestritten); vgl. auch Svenson [291].

Die schwieriger zu beobachtenden Vorgänge der Bakteriolyse der Typhusbacillen und der Pestbakterien sind zuerst von Pfeiffer & Kolle, sowie von Kolle (Pest), Hetsch & Otto [292] studiert worden. Bei den Pestbacillen verläuft der Prozeß der Bakterienauflösung unter dem Einflusse des Pestserums außerordentlich langsam, und, bei Benutzung vollvirulenter Kulturen, unter Mitbeteiligung der Leukocyten, worauf Marki [293] besonders hingewiesen hat.

Die Mikroorganismen werden zuerst unbeweglich, quellen dann auf und schrumpfen zu kleinen Kügelchen zusammen. Dieselben haben zum Teil noch eine deutliche Eigenbewegung, was beweist, daß auch lebende Vibrionen der Auflösung anheimfallen. Die Kügelchen nehmen zunächst noch den Farbstoff ziemlich gut auf und bieten das Aussehen von Mikrokokken dar. Sie nehmen im weiteren Verlaufe des Prozesses mehr und mehr an Größe ab und man kann direkt verfolgen, wie ihre Substanz in der Exsudatflüssigkeit sich auflöst, ganz so, wie Zucker in Wasser (R. Pfeiffer) oder wie Wachsstäbchen, die in heißes Wasser eingetaucht werden (Wassermann).

Metschnikoff leugnet die völlige Auflösung der Granula, weil er im Hängetropfen des granulahaltigen Peritonealexsudates mit Cholera vaccinierter Meerschweinchen die Kügelchen selbst bei tagelanger Beobachtung nicht ganz verschwinden sah; das liegt aber nur daran, daß außerhalb des Organismus, wie Pfeiffer stets betont hat, die Intensität der bakteriolytischen Wirkung verringert ist.

Auch Kraus & Clairmont [294] haben bei ihren Versuchen über die bakteriolytische Funktion des normalen Taubenserums gegenüber B. coli im Hängetropfen auf dem geheizten Objekttisch ein weiteres Fortschreiten der Auflösung über die Kügelchenbildung hinaus (wie sie in peritoneo auftritt) nicht beobachten können. Sie beschreiben sehr ausführlich die Veränderungen, die das Bakterium unter dem Einflusse der Serumwirkung erleidet, wie folgt:

Nach 20—30 Minuten quellen die Stäbchen auf; es ändert sich ihr Lichtbrechungsvermögen. Dann bilden sich aus den walzenförmigen Stäbchen Keulenformen; das breite Keulenende schwillt im weiteren Verlaufe mehr und mehr an und nimmt Kugelform an, während das schmale Ende allmählich ganz verschwindet. Selten wird eine „direkte“ Entstehung der Kügelchen aus den Bakterien beobachtet, indem ohne weitere Metamorphose der Längsdurchmesser des Stäbchens auf Kosten des Querdurchmessers bis zur völligen Gleichheit abnimmt.

Svenson[291] hat nachgewiesen, daß auch nach dem Ablauf des Pfeifferschen Phänomens noch immer in der Bauchhöhle des Tieres lebensfähige Vibrionen in geringer Zahl zurückbleiben. Diese spärlichen Vibrionen werden späterhin infolge der eingetretenen Immunität vollständig vernichtet.

Besonders eingehend hat auch Radziewski[295] im Pfeifferschen Institut die Veränderungen, die der Choleravibrio, B. pyocyaneus, B. typhi, Diplococcus lanceolatus, Streptococcus, Milzbrandbacillus im Peritoneum erleidet, an gefärbten Präparaten studiert. Er benutzte zur Färbung eine 1:30 mit Aqua dest. verdünnte Karbolfuchsin- oder Ehrlichsche Gentianaviolettlösung (Färbedauer ca. 1 Stunde)*). Neben der Auflösung der Bakterien im freien Peritoneum findet auch besonders dann, wenn bei geringen Dosen von Immunserum der Prozeß der Bakteriolyse sich sehr in die Länge zieht, eine Phagocytose statt. Besonders findet man die Vibrionen in den das Omentum bedeckenden Leukocyten.

Neufeld & Hühne[5] konnten die Resultate von Radziewski in diesem Umfang jedoch nicht bestätigen.

Auch beim Paratyphusbacillus leugnet Neufeld die Bakteriolyse, nach Laubenheimer[296], sowie Bezzolas[6] Untersuchungen zu Unrecht. Ganz andere Resultate als Neufeld erhielten auch Töpfer & Jaffé[297], Böhme[299], Kutscher & Meinicke[299]. Im Gegensatz zu der schweren und langdauernden Bakteriolyse beim Typhusbacillus verläuft das Phänomen bei den Bakterien der Paratyphus-B-Gruppe (Paratyphus B, Mäusetyphus und Enteritis I) nach Kutscher & Meinicke genau so glatt wie bei der Cholera. Das Paratyphusserum schützt nur in geringem Grade gegen die Bakterien der Enteritis II-(Gärtner-)Gruppe und den Typhusbacillus. Wenn vereinzelte Bakterien der Lyse entgehen, so können diese doch noch nach längerer Zeit den Tod der Tiere bedingen, was bei der hohen Virulenz dieser Gruppe verständlich ist (M. Neisser, Kutscher & Meinicke).

Ganz besonders liegen die Verhältnisse bezüglich der Bakteriolyse und Bakterizidie beim Milzbrandbacillus.

Sobernheim[300], Sawtschenko[301] und Ascoli fanden, daß das Milzbrandimmunserum weder im Reagenzglas noch im Organismus bakterizides Vermögen aufweist. Sobernheim, Metschnikoff[302], Marchoux konnten im immunisierten Organismus noch wochenlang nach der Infektion lebende Keime finden. Sobernheim vermißte eine Bakteriolyse auch beim Pfeifferschen Phänomen mit Milzbrandbakterien.

Nach Ascolis[305, 306] Untersuchungen wirkt das Milzbrandserum so, „daß es jene Prozesse hemmt, welche die Ansiedlung des Milzbrandbacillus im Tierkörper kennzeichnen". (Kapselbildung.) Die Anthrakozidie durch Blutplättchen, Phagocyten etc. spielt, wie Ascoli im Gegensatz zu Gruber[304] annimmt, nur eine sekundäre Rolle (s. unten). Die wirksame Substanz des Antimilzbrandserums geht nach ihm durch Berkefeldfilter. Sie ist kein Ambozeptor und wird nicht von den Mikroben verankert. Auch beeinträchtigt sie nicht die Virulenz der Bakterien. Bei der Ausfällung des Serums geht sie im wesentlichen in die Pseudoglobulinfraktion über.

Auch nach Petterson wirkt das Milzbrandserum nicht bakterizid und die Abtötung erfolgt erst innerhalb der Leukocyten durch deren bakterizide Stoffe. Das Serum des immunisierten Kaninchens ermöglicht es also nur gewissermaßen als ein Zwischenkörper die Bacillen mit den abtötenden Stoffen der Leukocyten in Kontakt zu bringen.

Ueber die bakterizide Wirkung beim Milzbrand haben dann in erster Linie Gruber & Futaki grundlegende Untersuchungen angestellt. Tschistowitsch[307] hatte zuerst den Blutplättchen eine gewisse Schutzwirkung zugeschrieben. Ottolenghi[308, 309] hat dann die bakterizide Fähigkeit von Fibringerinseln auf Blutplättchen bezogen. Die ersten experimentellen Ergebnisse bezüglich des bakteriziden Vermögens dieser Gebilde rühren aber von Gruber & Futaki[61] her. Sie fanden milzbrandtötende Substanzen in den Blutkörperchen von Kaninchen und Ratten, Pferd (Barrean[312]), nicht aber bei Ochs, Hammel, Schwein, Hund, Mensch (Werbitzki[313]). Sie bezeichnen diese Stoffe als Plakanthrakozidin. Diese Substanz ist außerordentlich wirksam.

---

*) Bei kurzdauernder Färbung tingieren sich nur die in den Leukocyten befindlichen Granula, während die große Menge der freiliegenden ungefärbt bleibt und der Beobachtung daher entgeht. (Um eine schnellere Färbung der freien Granula zu erzielen, empfiehlt sich die Verwendung von Kristallviolett.)

Eine Suspension von Plättchen aus 2 ccm Blut in 1 ccm Plasma tötet 6—12 Millionen Milzbrandkeime. In den Blutplättchen des für Milzbrand empfindlichen Meerschweinchens fehlen die Plakanthrakozidine. Sie unterscheiden sich von den Komplementen (Alexinen) durch ihre Thermostabilität, von den in den Leukocyten enthaltenen Endolysinen Pettersons (Leukanthrakozidine Grubers) dadurch, daß sie 1) in inaktives Serum übergehen; 2) durch frisches Plasma reaktivierbar sind; 3) alkalische Reaktion haben, während die Leukocytenstoffe sauer reagieren; 4) die Endolysine vertragen bis 80°; 5) die Wirkung der Plakanthrakozidine schwindet bei Säurezusatz, wird aber verstärkt durch Alkali; 6) beim Kaninchen ist Plakanthrakozidin vorhanden, Leukanthrakozidin fehlt, beim Huhn ist es umgekehrt. Das Plakanthrakozidin fehlt im normalen Serum und tritt erst bei einer Infektion auf. Ebenso wird es in vitro bei Zusatz von Bakterien oder ihren Extrakten zum plättchenhaltigen Plasma ausgeschieden.

Auffallend ist, daß das Plakanthrakozidin nach Schneider[314], Gruber & Othaki[315] nicht auf beladene Blutkörperchen noch auf Bacterium typhi oder Vibrio Finkler-Prior einwirkt. Nach Werbitzki auch nicht auf B. coli, dysenteriae Shiga-Kruse, Staphylococcus pyog. aur., Streptococcus, Pneumococcus, Vibrio cholerae. Dagegen außer auf Milzbrand auch auf Subtilis, Mycoides (Othaki, Werbitzki).

Das Plakanthrakozidin ist nicht dialysabel, wird aber von Filtern kaum zurückgehalten.

Zur Gewinnung der Blutplättchen eignet sich nach Schneider am besten die folgende Methode.

Zu 10 ccm 4-proz. Lösung von Natr. citricum kommen 90 ccm Kaninchenblut. Zentrifugieren bis zum Absetzen der Blutkörperchen $^1/_2$ Stunde bei 600 bis 1000 Drehungen. Das Plasma enthält die Blutplättchen, die ihrerseits nunmehr getrennt ausgeschleudert werden. Die Blutplättchen können dann nach nochmaligem Waschen mit 56° Serum extrahiert werden.

Im Gegensatz zu Gruber nimmt Ottolenghi[308, 309] an, daß bezüglich des Verhaltens gegenüber höheren Temperaturen zwischen Plakanthrakozidin und Alexin kein Unterschied besteht, namentlich wenn man bedenkt, daß auch das Komplement für Milzbrand beim Kaninchen relativ thermostabil (63°) ist (Bonaduce[316], Bail & Petterson[317], Ottolenghi).

Auch Werbitzki[313] fand eine Zerstörung der wirksamen Plättchensubstanz bei 65°, eine Abschwächung schon bei 60°. Auch gegenüber Sonnenlicht, Aufbewahrung bei Zimmertemperatur, Kälte etc. verhalten sich Plakanthrakozidin und Komplement analog.

Ob die Plakanthrakozidine für die Milzbrandimmunität wirklich die hohe Bedeutung haben, die ihnen Gruber & Futaki zuschreiben, erscheint nach Werbitzki fraglich, da z. B. Kaninchen und Pferd trotz des Reichtums an diesen Substanzen für Milzbrand sehr empfänglich sind, während das Huhn und der Hund, obwohl sie keine Plättchensubstanzen aufweisen, bekanntlich unempfindlich sind.

Nach Spät[318] wirkt das Schweinerotlaufserum nicht bakterizid, weder in vitro noch in vivo. Durch Behandlung mit Rotlaufbacillen wird es seiner schützenden Kraft nicht beraubt. Nur die Komplementbindungsfähigkeit schwindet. Dagegen enthalten die Leukocyten eine bakterizide Fähigkeit, die jedoch nicht mit Phagocytose verbunden zu sein braucht (Aphagozidie).

Weil[319] nimmt an, daß gegenüber der Streptokokkeninfektion des Kaninchens, bei der eine bakterizide Säftewirkung nicht nachweisbar ist, unter dem Einfluß der Infektion eine besondere Reaktion in Erscheinung tritt, die das Weiterwachsen der anfänglich vermehrten Streptokokken verhütet. Diese Reaktion ist eine rein vitale, denn ihr Endeffekt läßt sich im Reagenzglas nicht nachweisen.

Weil[320] hat auch eingehende Untersuchungen über die Wirkung des Hühnercholeraimmunserums an Meerschweinchen angestellt. Das Hühnercholeraimmunserum besitzt wohl im Reagenzglas, nicht aber im Tierkörper bakterizide Eigenschaften. Die Wirkung im Peritoneum des Meerschweinchens wird durch Komplementablenkung (Präzipitate) aufgehoben. Leukocyten können das Komplement ersetzen.

Wertbestimmung (Titrierung) des Serums.

Diejenige Dosis eines bakteriziden Serums, die im Meerschweinchenversuch gerade noch ausreicht, um das Tier vor dem zehn-

fachen Multiplum der Dosis letalis zu schützen, bezeichnet PFEIFFER als den Titer des Serums oder als Immunitätseinheit = I.-E. Die von R. PFEIFFER ausgearbeitete Wertbestimmungsmethode ist von einer geradezu quantitativen Genauigkeit, indem sich der Schutzwert eines Serums bis auf Bruchteile eines Milligramms absolut zuverlässig bestimmen läßt. Grundbedingung ist natürlich, daß man für vergleichende Versuche gleich schwere Tiere benutzt.

Nach PFEIFFER eignen sich am besten Meerschweinchen von 200 g Gewicht. Die zur Injektion kommende Flüssigkeitsmenge soll immer 1 ccm betragen, indem die abgestuften Mengen des Serums mit der Virusdosis (1 Oese) Kulturmasse gemischt werden (Mischungsmethode). Die zur Verwendung kommende Agarkultur soll 18—24 Stunden alt sein.

Die Injektion erfolgt, nachdem die Bauchhaut vorher durch einen Scherenschnitt getrennt ist, mit stumpfer Kanüle in das Peritoneum. Von Zeit zu Zeit werden mittels Glaskapillaren Proben des Bauchhöhleninhaltes entnommen und in ihnen das PFEIFFERsche Phänomen oder die Zunahme der Vibrionen beobachtet, je nachdem die eingespritzte Serummenge für den Schutz des Tieres ausreichend war oder nicht.

Diese Methode der Wertbestimmung des Serums, wie sie von PFEIFFER speziell für Cholera- und Typhusantisera ausgearbeitet ist, ist natürlich nicht für alle antibakteriellen Sera brauchbar, erfordert vielmehr je nach der Art der Infektionserreger und der zur Titrierung benutzten Tiere Abweichungen in verschiedener Richtung.

ARONSON [321] z. B. bezeichnet in Uebereinstimmung mit der Methode von MARX zur Prüfung des Schweinerotlaufserums ein Streptokokkenserum, von dem 0,01 ccm Mäuse vor einer für Kontrolltiere in 2—3 Tagen tödlichen Dosis schützt, als „Normalserum". Von diesem enthält 1 cmm eine „Immunisierungseinheit". Stärker wirkende Sera bezeichnet er als „zehnfach usw. normal".

Bezüglich der Details der Wertbestimmungsmethoden für die verschiedenen Immunsera muß auf die Kapitel über die Immunität bei den einzelnen Krankheiten in diesem Bande verwiesen werden.

Ganz allgemein aber sei bemerkt, daß zur Austitrierung der Sera die Methode des Tierexperimentes den Reagenzglasversuchen bei weitem vorzuziehen ist; das gilt nicht nur für die Wertbestimmung der Sera zu Heilzwecken, sondern auch für das Laboratoriumsexperiment.

Denn auch bei der scheinbar genauesten Einhaltung aller Kautelen, wie sie z. B. in einer später zu besprechenden Versuchsanordnung von NEISSER & WECHSBERG [323] erfolgt, liefert der Reagenzglasversuch häufig ganz andere Resultate als das allerdings kostspieligere und umständlichere Tierexperiment. Siehe hierüber die unter KOLLEs Leitung angestellten vergleichenden Versuche von TÖPFER & JAFFÉ [324]. Die Uebertragung der Verhältnisse in vitro auf die in corpore führt nur zu leicht zu falschen Schlußfolgerungen.

Die Methode der Auswertung im Tier bedingt von vornherein natürlich eine gewisse Pathogenität des in Frage kommenden Mikroorganismus für eine der im Laboratorium gebräuchlichen Tierspecies. Gerade für eine Reihe menschenpathogener Bakterien trifft das nicht zu. Man ist deshalb dort doch auf Reagenzglasmethoden angewiesen, um überhaupt einen Anhalt für das Vorhandensein von Schutzstoffen in einem derartigen Serum zu haben. So wurden die Agglutination, die Opsoninmethode und vor allem die Komplementablenkungsmethode häufig herangezogen.

Die letztere Methode ist zur Wertbestimmung von Wassermann[325] zuerst empfohlen worden; Moreschi[326, 327] leugnet ihre Brauchbarkeit für die Serumtitration, was allerdings von Wassermann & Leuchs[328] bestritten ist. Sie dient zur Wertbestimmung des Meningokokkenserums nach Kolle-Wassermann[329]. (Neufeld[330], Flexner[331] u. a. empfehlen zu dem gleichen Zweck, den Gehalt des Serums an Bakteriotropinen zu ermitteln.)

Nach Onaka[332] steigen die komplementbindenden Stoffe mit dem Immunisierungsgrad parallel. Dagegen soll die Wertbestimmung durch die Opsonine weniger brauchbar sein. Die Resultate seien je nach dem Meningokokkenstamm sehr schwankend. Die Methode soll nur zur Ergänzung, nicht aber zum Ersatz der Bestimmung durch die Komplementablenkung herangezogen werden.

Was nun speziell die Auflösung der Vibrionen im Peritoneum anlangt, so bestehen, wie sich aus Pfeiffers & Wassermanns Versuchen ergibt, zwischen den Mengen des spezifischen Serums und der Menge der zur Auflösung gebrachten Vibriosubstanz gesetzmäßige Beziehungen. Allerdings tritt die Proportionalität nur innerhalb enger Grenzen hervor und hört z. B. für Typhus und Cholera bei Dosen des Virus, die ein mehrfaches Multiplum der gewöhnlichen Dosis betragen (2 mg), auf.

Aus diesem Grunde gelingt es auch nur sehr schwer, mit dem Serum einige Zeit nach der Infektion noch Heilresultate zu erzielen, auch die größten Serumdosen versagen, sobald die Infektion eine gewisse Höhe erreicht hat.

Sobernheim & Jakobitz[333] haben speziell Untersuchungen in dieser Richtung mit der Cholerainfektion beim Meerschweinchen angestellt.

Walker[334] ist es angeblich gelungen, bei Typhus Tiere gegen Multipla der tödlichen Dosis mit Hilfe von entsprechenden Multiplis von Pferdeimmunserum zu schützen.

Er nimmt an, daß wenigstens bis zu einem gewissen Multiplum der Dosis minima letalis der Mangel an Immunkörpern an den negativen Resultaten Pfeiffers schuld sei. Er deduziert, daß bei Bestimmung des Titers eines Serums etwa für neun Zehntel der Dosis letalis die zur Bakterienauflösung nötigen bakteriziden Kräfte vom normalen tierischen Organismus selbst geliefert werden und nur gegenüber dem Rest das Immunserum in Betracht komme. Bei Verwendung von drei Dos. let. min. und drei Multiplis des Titerwertes des Serums wäre danach eine Serummenge eingespritzt, die an sich nur zur Neutralisierung von drei Zehntel der Bakteriendosis ausreicht, wozu noch für neun Zehntel die natürlichen Schutzkräfte des Organismus kämen, so daß noch für $3 - {}^{3}/_{10} - {}^{9}/_{10} = {}^{18}/_{10}$ der Bakteriendosis kein Immunserum zur Verfügung stände. Durch eine entsprechende Steigerung der Serumdosis gelang es Walker, die Tiere gegen ein Multiplum der Dosis letalis minima zu schützen. Doch hat diese Steigerung der Vaccindosis auch bei Walker eine obere Grenze, bei der dann auch eine noch so starke Vermehrung der Immunserumdosis ohne Einfluß ist.

Diese Walkerschen Beobachtungen stehen mit Pfeiffers Resultaten nur scheinbar in Widerspruch, denn man hat nur zu erwägen, daß Pfeiffer zur Titrierung seiner Sera nicht die Dosis minima letalis, sondern bereits das Zehnfache derselben benutzte, womit dann die Grenze der Bakterienmenge nahezu erreicht war, oberhalb derer keine Serumquantität mehr Schutz verlieh.

Auch Aronson[321] hat behauptet, daß er mit Hilfe seines Antistreptokokkenserums gegen große Multipla der Dosis letalis immunisieren könne. Dabei wächst die zur Immunisierung nötige Serumdosis weit langsamer als die zur Infektion verwendete Bakterienmenge. Bei der Streptokokkeninfektion liegen aber die Verhältnisse anders als bei Typhus usw., da die Dosis letalis minima von Streptokokken für die äußerst empfänglichen Versuchstiere viel tausendmal niederer liegt, als bei Typhus oder Cholera, so daß hier eher das Immunserum auch gegen Multipla der Dosis letalis minima schützen kann.

Die bakteriolytische Funktion des Immunserums ist eine spezifische.

Die Entdeckung der Spezifizität der bakteriolytischen Sera, die zu so wichtigen Folgerungen für die Diagnostik geführt hat, ist das Verdienst R. PFEIFFERS. PFEIFFER hat zuerst gezeigt, daß nur die mit Cholera vorbehandelten oder durch Choleraserum geschützten Meerschweinchen die Choleravibrionen zu vernichten imstande sind, daß aber andere Vibrionenarten und überhaupt andere Bakterien in keiner Weise beeinflußt werden. Er konnte zeigen, daß in der Bauchhöhle eines Meerschweinchens, das mit Cholera vorbehandelt war, aus einem Gemisch von Vibrio Cholera und Vibrio Nordhafen nur die Cholerabacillen der Vernichtung anheimfielen und umgekehrt bei der Injektion der gleichen Bakterienmischung in ein vorher gegen Vibrio Nordhafen vorbehandeltes Tier nur dieser Vibrio aufgelöst wurde, obwohl er an und für sich viel virulenter ist als der KOCHsche Kommabacillus. Ebenso lagen die Verhältnisse, wenn man die Sera der entsprechenden Tiere mit den Bakterien zur passiven Immunisierung in die Bauchhöhle eines normalen Tieres injizierte.

So konnte PFEIFFER auf Grund der Eindeutigkeit der Resultate dieser Versuche folgenden Schlußsatz aussprechen:

„Die Veränderungen, welche das Blut von Meerschweinchen bei der Immunisierung mit den Cholerabakterien oder den Nordhafenvibrionen erfährt, sind durchaus spezifischer Natur und verleihen nur gegen diejenige Vibrionenart Schutz, mit welcher der Immunisierungsprozeß stattgefunden hat, während derartiges Serum allen fremden Bakterienspecies gegenüber keine andere Wirkung ausübt, wie das Serum normaler Meerschweinchen.“

Mit Hilfe dieser Methode war ein Verfahren von einschneidender Wichtigkeit gewonnen worden, das gestattet, morphologisch und im Wachstum sich gleich verhaltende Bakterien verschiedener Species auf einwandfreie Weise voneinander zu trennen. Mit dieser Reaktion schien endgültig die von R. KOCH aufgestellte Lehre der Spezifizität des Cholerabacillus erwiesen.

Hier macht eigentlich nur die Gruppe der El-Tor-Vibrionen gewisse Schwierigkeiten bei der serodiagnostischen Bewertung.

Doch ist es schließlich nur ein Wortstreit, ob man diese Bakterien, obwohl sie bei cholerafreien Individuen isoliert wurden, nicht doch als echte Cholera anzusehen hat, das um so mehr, als ja auch neuerdings eine Reihe von Cholerastämmen beschrieben sind, die ihnen im biologischen Verhalten durchaus entsprechen und gleichfalls z. B. Hämotoxine bilden.

In analoger Weise wie gegenüber der Cholera wurden bald darauf bakterizide spezifische Sera gegenüber Typhus von PFEIFFER & KOLLE sowie von LÖFFLER & ABEL[335], gegenüber B. pyocyaneus von DUNBAR[336], WASSERMANN sowie von GHEORGIEWSKY[337], gegen die Spirochaeta Obermeieri von SAWTSCHENKO[338] und später noch gegen eine große Reihe von anderen Bakterienspecies hergestellt.

Auch durch Injektion von Sporen hat DEFALLE[341] einen bakteriolytischen Antikörper erzeugt. Seine Produktion kommt sicher nicht durch ausgekeimte vegetative Formen zustande, denn sie gelingt auch nach Injektion von bei 115° (im Autoklaven) abgetöteten Sporen.

Daß gegenüber Milzbrand keine bakteriolytischen Antikörper gebildet werden, ist bereits oben (s. S. 324) erwähnt; ebenso verhält es sich mit dem Streptococcus (S. 325).

Petterson[342] teilt die bakteriolytische Immunität in zwei große Gruppen. Bei Milzbrand, Streptokokken besorgen die Leukocyten die Keimverminderung. Das Serum enthält keine Schutzstoffe. Bei Cholera und Typhus ist es umgekehrt.

Die Leukocyten enthalten, wie Petterson im Gegensatz zu Weil[343] annimmt, kein Komplement. Wenn sie gleichwohl die Vibrionen auflösen, so liegt das daran, daß sie vorher das Komplement aufgenommen haben, denn die leukocytenreiche Bauchhöhle enthält, wie Petterson im Gegensatz zu Weil annimmt, reichlich Komplement.

Einwände gegen die Theorie der spezifischen Schutzwirkung und das Phänomen von R. Pfeiffer.

Die Lehre von der Spezifizität wurde anfangs heftig bekämpft. Klein[344], C. Fränkel[345] traten alsbald mit Veröffentlichungen hervor, denen zufolge es ihnen gelungen war, auch durch Behandlung von Meerschweinchen mit anderen Bakterien, die ähnliche Vergiftungserscheinungen wie die Cholera beim Meerschweinchen auszulösen imstande sind, eine Immunität gegen Cholera zu erzielen. Auf Grund derartiger Versuche konnte C. Fränkel zu der Vorstellung kommen: „die künstliche Immunität bei der Laboratoriumscholera der Meerschweinchen entbehrt durchaus der spezifischen Bedeutung. Es handelt sich hier um eine allgemeine Proteininfektion und Proteinimmunität.“ Sanarelli[346] konnte sogar durch Injektion von Muskarinsalzen eine scheinbare Immunität der Tiere gegen Cholera erzielen.

Die Versuche schienen dazu angetan, sowohl die Pfeifferschen Anschauungen über den Charakter des Choleragiftes wie die Lehre von der Spezifizität der Vibrionen über den Haufen zu werfen. Issaeff[347] konnte jedoch zeigen, daß die an und für sich richtigen Versuche der Autoren auf falscher Deutung beruhen.

Die Erhöhung der nicht spezifischen Schutzkräfte ist nicht auf echte Immunität, sondern auf eine Erscheinung, die von Pfeiffer & Issaeff mit dem Namen „Resistenz“ belegt wurde, zurückzuführen.

Diese Autoren konnten zeigen, daß man beim Meerschweinchen durch vorherige Injektion von verschiedenen Substanzen, die eine Entzündung auszulösen imstande sind, einen gewissen allgemeinen, d. h. nicht spezifischen Schutz gegen Bakterien erzielen kann, der im Stadium der Höhe der Entzündung am wirksamsten ist und bis zu deren Abklingen vorhält. So gelang es Issaeff durch vorherige Injektion verschiedener Flüssigkeiten dem normalen Meerschweinchen einen Schutz gegen die tödliche Dosis des Choleravibrio zu verleihen. Bezüglich der Fähigkeit, diese Resistenz zu erzeugen, folgen aufeinander in seinen Versuchen: physiologische Kochsalzlösung, Bouillon, Harn, Blutserum, 2-proz. Nukleinlösung, Tuberkulin. Natürlich wirken Bakterien in einer Dosis, die noch nicht den Tod des Versuchstieres, sondern nur eine Entzündung des Peritoneums hervorruft, in der gleichen Weise, wie dieses Klein und Sobernheim demonstriert haben. Die erhöhte Schutzkraft des normalen Organismus hat jedoch keine Beziehungen zur spezifischen Immunität. Die Schutzwirkung verliert sich in wenigen, höchstens 10—14 Tagen mit dem Verschwinden der Entzündungserscheinungen, während die spezifische Immunität bei den Versuchstieren über Monate hinaus in unveränderter Intensität erhalten bleibt.

Impft man die vorher mit anderen Bakterien oder den erwähnten, Resistenz verleihenden Substanzen behandelten Meerschweinchen erst am zehnten Tage nach der (nicht spezifischen) Vorbehandlung mit Cholera, so ist der ursprüngliche Schutz verloren gegangen. Vor allem konnten Pfeiffer & Issaeff zeigen, daß das Serum mit Bakterien vorbehandelter Meerschweinchen passiv ein Schutzvermögen ausschließlich gegenüber denjenigen Bakterien zu entwickeln imstande war, mit denen sie vorbehandelt waren.

Mit diesen Resultaten ist der Einwurf Fränkels, daß die von Pfeiffer als spezifisch bezeichneten Erscheinungen auf eine all-

gemeine bakterizide Immunität zurückzuführen seien, widerlegt, und die Lehre PFEIFFERS von der Spezifizität ist seitdem nicht wieder bekämpft worden, vielmehr konnten alsbald weitere Untersucher, wie DUNBAR[348], FUNK[349], METSCHNIKOFF[350], BORDET[351] und nach diesen viele andere die Richtigkeit seiner Resultate bestätigen.

So stellt heute das PFEIFFERsche Phänomen eine der wichtigsten Laboratoriumsreaktionen dar, die auch für den Kliniker von großer Bedeutung ist, so daß eine kurze Schilderung der Methode für die Zwecke der Praxis an dieser Stelle angebracht sein dürfte.

Wie mit jeder der spezifischen Serumreaktionen, von denen die PFEIFFERsche, obwohl die kostspieligste und umständlichste, aber auch hinsichtlich der Spezifizität die exakteste ist, verfolgen wir auch mit dieser in praxi zwei Zwecke:

1. Identifizierung einer unbekannten Bakterienart mit Hilfe eines bekannten wirksamen Immunserums, dessen Titer bestimmt ist („Testserum").

2. Identifizierung einer unbekannten Krankheit oder eines Bacillenträgers*) mit Hilfe einer bekannten als Erreger der Krankheit verdächtigen Bakterienspecies mittels des Serums des Patienten.

ad 1. Die Kultur muß für die zur Prüfung zu verwendenden Tiere eine gewisse, bekannte Virulenz haben, die Bruchteile einer Oese von 2 mg Fassungsgewicht betragen soll; am geeignetsten sind Kulturen, deren Virulenz derjenigen, die zur Titrierung des Testserums benutzt wurde, möglichst gleichkommt (eventuell Virulenzsteigerung durch Tierpassagen oder Abschwächung bis zum gewünschten Grade).

Das Gewicht der Tiere muß das gleiche sein wie bei den Tieren, die zur Titrierung des Testserums benutzt wurden.

Tier Nr. 1 erhält: 1 Oese einer 18 Stunden alten Agarkultur (Multiplum der Dosis letalis) und das mindestens 2-, höchstens 10-fache der Testserummenge, die dem Titer entspricht, in 1 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt intraperitoneal.

Tier Nr. 2 erhält: die gleiche Virusdosis sowie von der gleichen Species, von der das Immunserum stammt, eine bestimmte Dosis Normalserums (wie bei Tier Nr. 1 alles in 1 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt). Die Dosis kann bei Verwendung wirksamen Immunserums das 20—50- und Mehrfache, bei weniger wirksamen das 5—10-fache der Immunserumdosis betragen.

Ist die zu bestimmende Bakterienart mit der bekannten, die zur Erzeugung des Immunserums gedient hat, identisch, so erfolgt bei dem Tier Nr. 1 eine rapide Auflösung der Bakterien in der Bauchhöhle, die in ihrem Verlaufe nach der Methode PFEIFFER & ISSAEFF verfolgt werden kann.

Beim Tier Nr. 2 erweist sich das Multiplum des normalen Serums als wirkungslos und der Organismus erliegt der fortschreitenden Infektion**).

Ist dagegen die Bakterienart nicht die gleiche, die zur Erzeugung des Immunserums gedient hat, so sterben beide Tiere unter starker Vermehrung der eingebrachten Bakterien.

ad 2. Die Kultur soll eine genau bekannte mittlere Virulenz haben, wie sie von der ad 1 zu verwendenden beschrieben wurde.

Tier Nr. 1 erhält: von der gleichen Species von der das Patientenserum stammt, eine Dosis Normalserums (die an sich, wie aus Vorversuchen feststeht, nicht ausreicht, um das Versuchstier vor 1 Oese Kultur [dem Multiplum der Dosis letalis] zu schützen) + 1 Oese Kultur in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung intraperitoneal.

Tier Nr. 2 erhält: den höchstens 10. Teil der Dosis des Tieres Nr. 1 an Patientenserum + 1 Oese Kultur in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

---

*) Ueber den Nachweis bakterizider Substanzen bei Cholerabacillenträgern und Zwischenträgern durch das PFEIFFERsche Phänomen vgl. FRIEDBERGER[351a].

**) Ist man wegen Mangels eines hochwertigen Immunserums gezwungen, eine zu große Dosis Normalserum zu verwenden, so kann leicht bei dem Tier Nr. 2 infolge der bakteriolytischen Kräfte des Normalserums Auflösung der Bakterien erfolgen. Steht also kein sehr wirksames Immunserum zur Verfügung, so ist es, um Fehler zu vermeiden, erforderlich, das Normalserum vorher zu titrieren, und dem Tier Nr. 2 eine Dosis zu geben, die um ein Mehrfaches über dem Titer liegt, ohne dem des Immunserums zu nahe zu kommen.

Ist der Erreger, mit dem die Tiere geimpft wurden, mit dem identisch, der die Krankheit bedingt hat, so tritt bei Tier Nr. 2 die Bakteriolyse ein (vorausgesetzt, daß bereits vom Patienten genügend bakteriolytische Schutzstoffe gebildet sind), während Nr. 1 der Infektion erliegt.

Aehnlich wie bei der Agglutination, für die bei den verwandten Bakterienarten die Spezifizität keine absolute ist, indem z. B. ein Typhusimmunserum auch Colirassen stärker beeinflußt als Normalserum (Gruppenreaktion), verhält sich auch die bakteriolytische Spezifizität. Es sind Beobachtungen bekannt, daß ein Immunserum auch bei verwandten Bakterienspecies eine geringe Schutzwirkung hervorgerufen hat.

Nach Löffler & Abel [352] wirkte Typhusimmunserum im geringen Grade auch bei gewissen Coliarten und nach Dünschmann [353] Rauschbrandserum gegenüber dem Erreger des malignen Oedems.

Bakterien der Typhus- und Enteritis II-(Gärtner-)Gruppe lassen sich durch das Pfeiffersche Phänomen nicht sicher voneinander differenzieren, ebensowenig die Bakterien der Paratyphusgruppe (Paratyphus, Mäusetyphus und Enteritis I).

Gewisse Schwierigkeiten bereitet die Anstellung des Pfeifferschen Versuches mit den sogenannten serumfesten Stämmen, d. h. mit den Bakterienstämmen, die mangels eines ausgebildeten Rezeptorenapparates der Einwirkung des Serums gegenüber vollkommenen Widerstand leisten. (Näheres über derartige Stämme, wie sie von Cohn [354], Walker [355], Pfeiffer [356], Bail [357] u. a. künstlich erzeugt sind und nach den Untersuchungen von Friedberger [358], Friedberger & Moreschi [359], [360], Besserer & Jaffé [361], Bail u. a. bei Typhus spontan vorkommen, siehe weiter unten.)

Hier kann unter Umständen auch ein gegenüber einem anderen Stamm hochwirksames Serum versagen. Es ist dann die Diagnose nur noch durch die aktive Immunisierung und Auswertung des gebildeten Serums gegenüber einem Normallaboratoriumstamm zu erreichen. Nach Friedberger [362] kommt übrigens nicht so sehr die absolute Titerhöhe eines bakteriolytischen Serums für die diagnostischen Zwecke in Frage, wie sie gegenüber einem bestimmten Stamm erzielt ist, sondern neben dieser Titerhöhe auch die Titerbreite, d. h. die Polyvalenz gegenüber verschiedenen Stämmen. Friedberger & Moreschi fanden z. B., daß zwei Sera gegenüber einem und demselben Typhusstamm den gleichen bakteriziden Titer besaßen, aber das eine von den beiden, das durch mehrmalige Immunisierung erzeugt war, hatte zugleich eine höhere schützende Kraft gegenüber einem abnorm serumfesten Stamm. Die Immunisierung war also in letzterem Falle eine zuverlässigere, obwohl das bei der gewöhnlichen Titerbestimmung mit nur einem virulenten Stamm nicht zum Ausdrucke kam.

Ein Vergleich der bakteriziden Titerbewertung im Tierversuch nach Pfeiffer mit dem bakteriziden Plattenversuch ist nicht ohne weiteres zulässig, die Resultate gehen, wie besonders Töpfer & Jaffé [297] in eigens darauf angestellten Versuchsreihen gezeigt haben, nicht parallel. Die Autoren fanden z. B. bei Typhuskranken in den ersten Stadien bei geringem Titer im Pfeifferschen Versuch hohe Werte mit der Plattenmethode; in der Rekonvaleszenz bestand das umgekehrte Verhalten.

Auch mit der Komplementablenkungsmethode zeigt die von Pfeiffer keine Parallelität, wie vor allem Moreschi [327], [328] betont hat (s. jedoch auch S. 327/28).

Einwände gegen die Bedeutung der bakteriziden Schutzstoffe für die Immunität.

Gegen die Bedeutung der bakteriziden Serumwirkung für den Schutz des Organismus im Sinne R. PFEIFFERS hat vor allem BAIL[363] Einwände erhoben.

Er behauptet, daß das Cholera- und Typhusimmunserum bei Infektion in die Blutbahn oder direkt in das Gewebe versage. Die Bakterizidie sei vielmehr ein reines Reagenzglasphänomen, das im Organismus selbst nur in geschlossenen Hohlräumen wie der Bauchhöhle (die gewissermaßen ein Reagenzglas darstellen) zustande käme.

FRIEDBERGER[364] weist demgegenüber darauf hin, daß die negativen Resultate BAILS nur auf ungünstige Versuchsbedingungen zurückzuführen seien und daß unter geeigneten Verhältnissen auch hier die Bakterizidie hervortrete.

Aber auch da, wo sie vorhanden ist, soll sie nach BAIL „nicht die Ursache einer wahren Immunität sein können".

Gegen die Bedeutung des PFEIFFERschen Phänomens führt BAIL drei Argumente ins Feld. Es sind das

erstens „der METSCHNIKOFFsche Versuch": d. h. die Zerstörung der Bakterien beim passiv immunisierten Tier innerhalb der Leukocyten und nicht in der freien Bauchhöhle, sobald Leukocyten überhaupt zugegen sind.

Das Wesentliche ist aber, daß unter den natürlichen Verhältnissen des Geschehens die Leukocyten erst auftreten, wenn die Bakterien beim PFEIFFERschen Versuch bereits aufgelöst sind.

Das zweite Argument ist die Resistenz „tierischer" Bacillen im Vergleich zu Kulturbakterien gegenüber der Wirkung bakteriziden Serums.

Diese ist allerdings vorhanden und namentlich auch EISENBERG weist auf ihre zweifellose Bedeutung nachdrücklich hin; aber diese Serumresistenz ist natürlich auch nur eine relative; sie versagt meist gegenüber entsprechend größeren Serumdosen.

Den dritten Beweis sieht BAIL in der von ihm im Anschluß an frühere Hypothesen KRUSES entdeckten Aggressivität der Bakterien.

Es kann natürlich in diesem Kapitel nicht die enorme Aggressinliteratur ausführlicher behandelt werden, in der vor allem BAIL und seine Schüler ihre Anschauungen zu stützen gesucht haben und damit ein enormes wohlfundiertes Tatsachenmaterial beigebracht haben, das unbeschadet der theoretischen Deutung an sich die größte Würdigung verdient.

Nach BAIL kommt den pathogenen Bakterien eine gewisse Schutzwirkung gegenüber den Schutzkräften des Organismus zu; indem BAIL dieser Fähigkeit der Mikroorganismen ein körperliches Substrat substituiert, kommt er zum Begriff des Aggressins. Der Verlauf der Infektion ist die Resultante der aggressiven Fähigkeit des Parasiten gegenüber den Schutzkräften des Organismus. Das Aggressin findet sich im Organismus in erster Linie da, wo sich der Kampf zwischen Mikroorganismus und Makroorganismus abspielt, also z. B. bei der intraperitonealen Infektion im Bauchhöhlenexsudat.

Das Aggressin (d. h. sein Substrat, das sterilisierte Bauchhöhlenexsudat) hat nach BAIL folgende Eigenschaften:

1) Es macht, in den Organismus injiziert, noch untertödliche Bakteriendosen zu tödlichen.

2) Das Aggressin bewirkt gegenüber der Kontrolle einen bedeutend schwereren Infektionsverlauf.

3) Die Aggressine lähmen die Schutzkräfte (Bakterizidie, Phagocytose).

4) Vorbehandlung von Tieren mit Aggressinen erzeugt eine besondere „antiaggressive Immunität"; die betr. Sera vermögen die aggressive Wirkung der Exsudate zu paralysieren*).

Durch die Arbeiten von Wassermann & Citron[365], Pfeiffer & Scheller[366], Doerr[367–369], Sauerbeck[370] u. a. wurde sowohl die Existenz besonderer Aggressine als auch das Vorhandensein einer besonderen antiaggressiven Immunität in Frage gestellt.

Wassermann & Citron zeigten, daß mit destilliertem Wasser aus Bakterienkulturen hergestellte Extrakte, „künstliche Aggressine", genau so wirken, wie die natürlichen (von Bail[371], Weil[372], Salus[374] u. a. bestritten).

Wichtige Einwände erhebt dann Doerr. Er weist zunächst mittels der Präzipitinmethode nach, daß die Aggressine eine große Menge Bakteriensubstanz enthalten und führt ihre infektionsbegünstigenden Eigenschaften auf den Gehalt an Endotoxin zurück. Man bekommt auch die infektionsbefördernde Wirkung dann, wenn man nicht gleichzeitig das Aggressin interperitoneal, sondern irgendwo anders subkutan einspritzt. Die infektionsbegünstigende Wirkung kommt nicht den Aggressinen als solchen zu, denn man kann mit gewöhnlichen Bakterienextrakten und mit Giften, z. B. Diphtherietoxin, das gleiche erzielen.

Auch Sauerbeck[465] bringt Beweismaterial dafür, daß das Aggressin nur Endotoxin sein kann. Das Aggressin ist keineswegs ungiftig, wie es Bail annimmt. Größere Dosen, d. h. schon das Doppelte bis Dreifache der aggressiven Dosis, rufen nach Sauerbeck den Tod hervor.

Levi & Fornet[375] fanden dagegen wieder, daß filtrierte Kulturen von Paratyphus- und Typhusbacillen, die absolut nicht toxisch sind, schon in geringen Dosen wie die Aggressine infektionsbefördernd und negativ chemotaktisch auf die Leukocyten wirken. (Ueber die Immunisierung mit Aggressinen s. S. 346.)

Jürgens[376] glaubte dann auch für den Menschen die Bedeutung der Säftebakterizidie dadurch widerlegt zu haben, daß er bei einem Typhusrekonvaleszenten mit hohem bakteriziden Titer trotzdem das Auftreten eines Rezidives beobachtete. Das ist aber doch äußerst selten und es kann sich da sehr wohl um eine Reinfektion mit einem besonders serumfesten Stamm gehandelt haben.

Die Tatsache, daß bei Typhusrekonvaleszenten mit hohem bakteriziden Titer die Bakterien nicht nur in der Gallenblase und im Darm vorkommen (Bacillenträger), also an Orten, die der Einwirkung der bakteriziden Säfte entrückt sind, sondern auch innerhalb von Organen (Knochenmarkabszesse, Nierenabszesse usw.), ist wohl auch so zu erklären, daß es sich hier um serumfeste Typhusstämme handelt. Schließlich sind die Bacillen häufig aber auch hier in einem abgekapselten Herd an sich schon mehr geschützt.

---

*) De Waele[373] gelang es durch Dialyse das Aggressin in zwei Komponenten zu zerlegen, eine dialysable, thermostabile und eine thermolabile, nicht dialysable.

Bildung der spezifischen Schutzstoffe (aktive Immunisierung).

Die spezifischen bakterienauflösenden Schutzstoffe belegte PFEIFFER mit dem nichts vorgreifenden Namen „Antikörper" des Serums Sie entwickeln sich bei den verschiedenen Tierspecies und individuell in verschiedenem Maße, quantitativ bis zu einem gewissen Grade abhängig von der Dosis des Virus, wie das die Untersuchungen von ASCHER[377], MERTENS[378] und FRIEDBERGER[379] gezeigt haben.

Als die ersten Immunisierungsversuche an Meerschweinchen mit einwandfreien Kulturen dürften die von BRIEGER, KITASATO & WASSERMANN[232] zu betrachten sein.

Beim Kaninchen ist nach den Untersuchungen von PFEIFFER & MARX[389, 390], sowie KOLLE[385, 386] die Antikörperbildung eine sehr rapide, sie ist bereits am dritten Tage im Blutserum nachweisbar und erreicht am achten Tage ihren Höhepunkt.

Nach ASCHER existiert für Cholera beim Kaninchen innerhalb gewisser Grenzen bei subkutaner Impfung eine Abhängigkeit des Grades der erzielten Immunität von der Bakteriendosis.

Dies Verhältnis tritt jedoch nur bei größeren Differenzen der Virusdosen zutage, während Dosen von jeweils 3 und 1, $^1/_2$ und $^1/_4$ Agarröhrchen, $^1/_5$ und $^1/_{10}$ Oese eine gleich starke Reaktion auslösen.

MERTENS fand bei Vergleichsversuchen mit subkutaner und intravenöser Impfung von Choleravibrionen bei letzterem Verfahren einen durchschnittlich 150mal höheren Titer des Serums.

FRIEDBERGER ermittelte als Grenzdosis, die bei intravenöser Verimpfung von Choleravibrionen noch Antikörperbildung auszulösen vermag, $^1/_{5000}$ Normalöse einer bei 60° abgetöteten Agarkultur (Normalöse von 2 mg Fassungsgewicht). Bei diesen minimalen Mengen zeigte sich ausgesprochener als in den vorerwähnten Versuchen von ASCHER eine Abhängigkeit der Antikörperbildung von der Virusdosis.

Die Immunisierung mit kleinen Dosen scheint, wie FRIEDBERGER hervorhebt, besonders geeignet, die Intensität der Antikörperbildung unter dem Einfluß gewisser Eingriffe im Vergleich mit Kontrolltieren zu studieren. Auf diese Weise hat FRIEDBERGER[380] konstatiert, daß die einmalige Eingabe einer berauschenden Alkoholdosis zugleich mit der Choleravaccination die Intensität der Schutzkörperbildung im Vergleich zu nicht mit Alkohol behandelten Kontrolltieren um das durchschnittlich 2,5-fache steigert. Umgekehrt bewirkt eine mehrere Wochen bis Monate lang fortgesetzte Darreichung des Alkohols vor der Vaccinierung eine Verminderung der Antikörperproduktion um das durchschnittlich 16-fache des Wertes bei Kontrollen.

Diese Versuche erfuhren eine Bestätigung durch P. TH. MÜLLER[381], C. FRÄNKEL[382], TROMMSDORFF[383] und andere.

Durch die gleichzeitige Vaccinierung mit zwei Bakterienarten wird der Titer des Serums für die eine der beiden Bakterienarten nach FRIEDBERGERS Untersuchungen gleichfalls bedeutend herabgesetzt.

Besonders eingehend hat dann TROMMSDORFF den Einfluß einer Reihe äußerer Momente auf die Intensität der Antikörperbildung untersucht.

FUKUHARA[384] fand, daß künstliche Erwärmung im Wasserbad von 43—48° eine Zunahme der bakteriziden Fähigkeiten beim Kaninchen gegenüber Typhus bedingte. Ebenso trat eine Steigerung der Antikörperbildung ein durch Injektion von Milz, Leber und Leberextrakten vom Hund, die mit physiologischer Kochsalzlösung bereitet waren. Beim Alkohol beobachtete er keine deutliche Zunahme der bakteriziden Fähigkeit.

Vergleichende Untersuchungen über die Immunisierung von Kaninchen mit verschiedenen Methoden sind von Friedberger & Moreschi[387] angestellt. Sie führten zu folgenden Resultaten:

Es gelingt regelmäßig, beim Kaninchen bei Verwendung geeigneter Stämme durch Verimpfung von bei 60° abgetöteten Cholera- und Typhusbakterien in Dosen, die Bruchteile von $^1/_{100}$ Oese betragen, hohe bakterizide Titer und hohe Agglutinationswerte zu erzielen.

Der gleiche Effekt wird durch trockene und auf 120° erhitzte Bakterien erreicht.

Auf 150° erhitzte trockene Bakterien zeigen eine beträchtliche Verminderung resp. Schwächung ihrer Lysinogene und einen anscheinend vollständigen Verlust ihrer Agglutinogene.

Bei Erhitzung der Bakterien im feuchten Zustande auf über 100° werden die lysinogenen Gruppen und die agglutinogenen beträchtlich geschädigt.

Bei Abtötung der Cholerabakterien mit Chloroform werden die lysinogenen Gruppen nur unbedeutend geschädigt, die agglutinogenen innerhalb der gewählten Versuchsbedingungen unwirksam gemacht.

Dagegen bewirkt die Autolyse von mit Chloroformdämpfen behandelten Cholerabakterien bei 37° eine Wiederzunahme der Wirksamkeit ihrer Antigene.

Auf die nach Pfeiffer-Kolle oder nach der Methode Löffler[388] bei 120° abgetöteten Bakterien hat die Autolyse bei Körpertemperatur bis zu 11 Tagen keinen deutlichen Einfluß bezüglich der Wirksamkeit der Antigene, sicher wird sie nicht erhöht.

Bei 100° in Emulsion abgetötete Bakterien erfahren durch die Autolyse eine Schädigung ihrer Antigene.

Durch mehrmaliges Frierenlassen und Wiederauftauen erfahren bei 60° nach Pfeiffer-Kolle abgetötete Bakterien keine Veränderung ihrer Wirksamkeit für die Antikörperproduktion.

Bei einem Abtötungsmodus der Bakterien, welcher die Antigene schädigt, d. h. also bei Verimpfung wenig wirksamer Antigene, ist die Intensität der Antikörperbildung der Menge des Impfstoffes proportional. Dagegen besteht bei der Verimpfung wirksamer Vaccins innerhalb weiter Grenzen keine Proportionalität zwischen Impfstoffmenge und Höhe der Antikörperproduktion, vielmehr sind in der Regel die kleineren Dosen die wirksameren.

Die durch einmalige Injektion minimaler Bakteriendosen produzierten Antikörpermengen verschwinden nur sehr langsam aus dem Organismus; sicher sind noch große Mengen von Antikörpern nach 4, selbst nach 5 Monaten nachweisbar.

Calmette & Breton[391] sahen den Titer des mit Typhus vaccinierten Meerschweinchens besonders hoch ansteigen, wenn nach mehreren, in etwa 1-wöchentlichen Intervallen erfolgten Injektionen das Tier mehrere Monate lang nicht behandelt wurde und dann wieder von neuem zweimal vacciniert wurde. Aehnliche Beobachtungen erhob Cole[392]. Es gelang ihm, bei Kaninchen, die vor Monaten mit Typhus geimpft waren, aber zur Zeit des Versuches keine Vermehrung ihres Antikörpergehaltes gegenüber der Norm besaßen, eine erneute Immunkörperbildung auszulösen mit Dosen, die unterhalb der für normale Tiere wirksamen Menge lagen.

Löffler & Abel[393], sowie Kollmann[394] gelang es durch häufige intraperitoneale Injektion kleiner Dosen von B. typhi resp. coli Meerschweinchen innerhalb weniger Stunden gegen ein hohes Multiplum der tödlichen Dosis unempfänglich

zu machen. Diese Unempfänglichkeit ist nach KOLLMANN bei den geimpften Tieren noch nach 2 Monaten nachweisbar.

*) Was die zur Herstellung des Impfstoffes zu verwendende Kultur anlangt, so ist deren Beschaffenheit keineswegs gleichgültig für die Güte des zu erlangenden Serums. Für die Auswahl einer günstige Antikörperausbeute liefernden Typhuskultur ist, wie die Untersuchungen von WASSERMANN & STRONG[394] dartun, nicht die Virulenz maßgebend, aber auch nicht, wie sich aus den Untersuchungen von FRIEDBERGER & MORESCHI[387] ergibt, die Bindungsfähigkeit in vitro.

Im Gegensatz dazu ergaben für Cholera die Untersuchungen von PFEIFFER & FRIEDBERGER[395], die durch STRONG[396] eine Bestätigung erfuhren, Tatsachen, wonach antigene Fähigkeit, Bindungskraft in vitro und Virulenzgrad parallel zu gehen schienen. Auch bei der Pest ist, wie die deutsche Pestkommission (GAFFKY, PFEIFFER, DIEUDONNÉ[397]) festgestellt hat, die Intensität der Antikörperbildung erheblich abhängig von der Virulenz der Kultur. Die allgemeine Gültigkeit dieser Verhältnisse ist jedoch durch weitere Untersuchungen von MEINICKE[398], JAFFÉ & FLEMMING[399] für Cholera wieder in Frage gestellt.

Es besteht aber hier nicht nur ein qualitativer Unterschied zwischen Typhus und Cholera, sondern zugleich ein quantitativer, derart, daß die antigene Fähigkeit des Typhusbacillus für den Menschen absolut eine stärkere zu sein scheint als die des Choleravibrio.

Wie die Versuche von FRIEDBERGER[379] sowie FRIEDBERGER & MORESCHI[387] mit der Injektion kleinster Mengen abgetöteter Bacillen in die Blutbahn beim Menschen es dartun, ist eine Menge von 0,00079 mg toter Typhusbakterien (abgetötet in trockenem Zustand bei 120° nach LÖFFLER) noch imstande, eine starke Antikörperbildung zu bewirken, während bis zu 80mal größere Cholerabakterienmengen von einer virulenten und im Tierversuch erprobten Kultur versagen.

Sodann wäre noch auf den verschiedenen Grad der Giftigkeit des Choleraimpfstoffes im Vergleich zum Typhusvaccin hinzuweisen. Schon PFEIFFER & KOLLE heben die geringe Giftigkeit der Cholerabakterien für den Menschen hervor; diese ergibt sich auch aus dem geringen Grad der klinischen Symptome nach erfolgter Choleraimpfung selbst mit lebenden Bakterien, wenn wir damit den oft stürmischen Verlauf bei Typhusimpfungen vergleichen.

Nach FRIEDBERGER-MORESCHI rufen Minimaldosen des Typhusimpfstoffes von $^1/_{1000}$ Oese (= 0,00078 mg) unter Umständen noch Störungen des Allgemeinbefindens und hohes Fieber hervor, während vom Choleraimpfstoff $^1/_{100}$ und selbst $^1/_{50}$ Oese fast reaktionslos vertragen wurde.

Auch der Ort der Einspritzung ist für die Intensität der Antikörperbildung keineswegs gleichgültig. Nach FRIEDBERGERS vergleichenden Untersuchungen wird die höchste Ausbeute bei intravenöser, die geringste bei subkutaner, eine mittlere Ausbeute bei intraperitonealer Injektion erzielt.

---

*) Die nachstehenden Ausführungen über aktive Immunisierung lehnen sich, soweit sie sich auf Typhus und Cholera beziehen, an die Artikel „Schutzimpfung gegen Typhus", „Schutzimpfung gegen Cholera" des Verfassers im Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung von KRAUS & LEVADITI (Jena 1908) an.

Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß die Immunisierung mit lebenden Bakterien zur Erzeugung bakterizider Sera der mit abgetöteten überlegen ist. Beim Menschen ist jedoch dieser Impfmodus nur bei denjenigen Bakterienarten möglich, die von der Infektionsstelle aus nicht pathogen wirken. So kann man z. B. Cholera, wie das Ferran[400, 401] zuerst getan hat, wohl lebend subkutan spritzen, nicht aber den Erreger des Typhus oder der Pest, doch haben auch hier Strong & Kolle[402] die Anwendung von durch monatelange Züchtung in einer 0,5 Proz. Alkohol enthaltenden Bouillon bei 41 bis 43° gewonnener Pestkultur, von der man annehmen mußte, daß sie ihre Virulenz vollständig verloren hat, zur Immunisierung empfohlen. Strong[403] hat mit diesem Material Versuche mit Gefängnisinsassen in Manila angestellt. Er empfiehlt übrigens einen entsprechend abgeschwächten Typhusstamm für Immunisierung des Menschen lebend zu verwenden.

Bei einer Reihe von gefährlichen Tierseuchen wie Schweinerotlauf, Hühnercholera ist die Immunisierung mit toten Bakterien gänzlich wirkungslos; die mit lebenden scheiterte an der hohen Infektiosität. Deshalb haben hier Wassermann & Citron[365] mit Erfolg einen Impfstoff benutzt, der in Analogie mit einem früheren Verfahren von Brieger & Meyer[104] durch Schütteln lebender Kulturen mit destilliertem Wasser und nachherigem Filtrieren hergestellt war. („Künstliche Aggressine“, weiteres s. unten S. 346.)

Aktive Immunisierung des Menschen (mit Vollbakterien).

Was die aktive Immunisierung des Menschen anlangt, so ist sie praktisch im wesentlichen nur gegenüber Typhus, Cholera und Pest angewandt, in Rußland auch vielfach gegenüber dem bei Scharlach vorkommenden Streptococcus (Gabritschewsky[405]). Bei allen diesen Methoden ist ein möglichst hoher bakterizider Titer zu erzielen.

Obwohl das Serum eines Typhusrekonvaleszenten in der Regel und das Serum zweckmäßig künstlich immunisierter Menschen und Tiere stets einen hohen bakteriolytischen Titer hat, während dem Normalserum nur eine minimale schützende Kraft zukommt, so hat man doch von manchen Seiten die Steigerung der bakteriolytischen Serumkraft gegen die Norm nicht als unbedingten Beweis und als Maßstab der Immunität ansehen wollen. Namentlich Beobachtungen eines erneuten Ausbruches des Typhus während der Rekonvaleszenz bei ausgesprochener bakteriolytischer Qualität des Serums schienen dagegen zu sprechen (Jürgens[376]). Derartige vereinzelte Beobachtungen lassen sich jedoch, worauf Friedberger[364] hingewiesen hat, durch die Annahme einer Reinfektion mit einem serumfesten Stamm erklären und vermögen nicht die Bedeutung der Bakterizidie im allgemeinen zu erschüttern.

Wenn wir sehen, daß Tiere, die nach brauchbaren Methoden aktiv gegen Typhus und Cholera immunisiert sind, regelmäßig bei künstlicher Nachinfektion geschützt sind, und daß die Reinfektion beim Menschen innerhalb begrenzter Zeitabschnitte zu den größten Seltenheiten gehört, wenn wir andererseits sehen, daß bei allen diesen Individuen der bakteriolytische Titer eine hohe Steigerung gegen die

Norm erfahren hat, so dürfen wir wohl den Serumtiter als Maßstab für die Immunisierung benützen.

Ohne hier auf die Frage eingehen zu wollen, ob die Immunität gegen Typhus und Cholera ausschließlich auf dem erhöhten bakteriolytischen Vermögen der Körpersäfte beruht*), müssen wir wohl doch den Schluß ziehen, daß der aktive Schutz ein um so höherer ist, je stärkere schützende Wirkung dem Serum bei der passiven Uebertragung im Infektionsversuch am Tier, resp. im Plattenversuch zukommt.

Wir haben also im bakteriziden Titer in der Tat einen Maßstab zur Beurteilung des immunisierenden Verfahrens und zur Bewertung des erreichten Schutzes. Natürlich muß die Auswertung der bakteriolytischen Kraft eines Serums gegenüber einem geeigneten, d. h. virulenten Stamm erfolgen. Dann geben wenigstens für Cholera bei der Einheitlichkeit des Rezeptorenapparates dieser Bakteriengruppe die gefundenen Werte wohl den absoluten Maßstab zur Beurteilung des Serums.

Bei der Verschiedenheit des Rezeptorenapparates verschiedener Typhusrassen, wie sie zuerst durch Friedberger[358, 406] aufgedeckt und durch Friedberger & Moreschi[359, 360], sowie im Anschluß daran durch Besserer & Jaffé[361], Meinicke[398], Jaffé & Flemming[399], Händel[407], Händel & Woithe[408] untersucht wurde, gibt der Titer gegenüber einem virulenten Typhusstamm noch keinen absoluten Maßstab für die Bewertung eines Serums. Nach Friedberger ist neben der Titerhöhe auch eine Titerbreite (Polyvalenz gegenüber verschiedenartigen Typhusstämmen) für die Bewertung der Immunität in Betracht zu ziehen (s. auch oben).

Auch Carrière & Tomarkin[409] fanden: der Heilwert der Sera ist unabhängig vom Titer, abhängig von der Länge der Behandlung.

Mischsera verschiedener Tiere sind am wirksamsten. Durch geeignete Vorbehandlung läßt sich eine gewisse Antiendotoxinquote erzielen, die die Gefahren der Endotoxinvergiftung beim Menschen durch die Darreichung des Immunserums aufhebt.

Nach neueren Untersuchungen von Kraus[410], Löffler[411] und Wassermann & Citron[412, 413] scheint auch einer lokalen Immunität für den Schutz unabhängig vom Titer eine gewisse Bedeutung zuzukommen. Speziell für die hier in Betracht kommenden Infektionen, Cholera und Typhus, liegen aber Untersuchungen in dieser Richtung noch nicht vor. Es dürfte auch bei der Unmöglichkeit, wegen der Unempfänglichkeit von Tieren (vielleicht mit Ausnahme der anthropoiden Affen) gegenüber diesen Infektionen das Tierexperiment heranzuziehen, kaum jemals gerade bei diesen Krankheiten eine Lösung herbeigeführt werden.

Es wäre daher von größtem Werte, zu untersuchen, inwieweit beim Tier vermittels eines Erregers, der eine echte Darminfektion auslöst, durch Vorbehandlung mit abgetötetem Material auf dem Wege

---

*) Svenson[291] weist darauf hin, daß bei schutzgeimpften Individuen bedeutend höhere bakteriolytische Titerwerte im Serum auftreten, als wir sie bei Cholerarekonvaleszenten zu sehen pflegen. Gleichwohl sind die letzteren gegenüber einer Reinfektion wenigstens in derselben Epidemie geschützt, während wir bei künstlich Schutzgeimpften doch Infektionen auftreten sehen. Die Gegenwart von Bakteriolysinen im Blutserum ist also nicht der einzige Maßstab für die Immunität. Svenson macht hier eine Umstimmung der Gewebe, speziell eine lokale Darmimmunität für den Schutz verantwortlich.

des Verdauungstractus sich eine „lokale“ Immunität erzielen ließe, die einen sicheren Schutz gegen nachherige Infektion mit vollvirulentem Material gestattet, ohne daß doch eine nennenswerte Steigerung der spezifischen Qualitäten des Blutserums einzutreten braucht. Diese ist nach Friedbergers[414] Tierversuchen bei Verfütterung von Typhus- und Cholerabakterien und nach Versuchen von Wright[415], Brieger & Mayer[416], [417] am Menschen (Typhus), wenn sie überhaupt eintritt, nur minimal. Daß eine gewisse lokale Immunität vom Darm aus, wenigstens gegenüber chemischen Giften, in der Tat möglich ist, dafür sprechen Untersuchungen, die Cloëtta[417a] angestellt hat. Es gelang ihm durch Verfütterung von Arsenik per os Hunde und Kaninchen an Dosen zu gewöhnen, welche beim Kontrolltier unbedingt toxisch wirken; doch waren diese Tiere gegenüber der subkutanen Darreichung des Giftes genau so empfindlich wie die Kontrollen.

Wenn auch bei Typhus und Cholera eine lokale Immunität des Darmtraktus in diesem Sinne sich erzeugen ließe, so wäre ein Verfahren hierfür in Verbindung mit der seither üblichen allgemeinen Immunisierung besonders geeignet, gerade bei Typhus entsprechend dem Charakter dieser Infektion Erfolge zu zeitigen.

Die Schutzimpfung gegen Typhus wurde im wesentlichen an einem sehr gleichartigen Menschenmaterial ausgeführt, nämlich an Truppenbestandteilen der englischen Kolonialarmee und später an Soldaten des deutschen Heeres, die zur Bekämpfung des Aufstandes nach Afrika entsendet wurden. Die Resultate scheinen günstig zu sein.

Aber doch bietet die Unmöglichkeit, alle äußeren Verhältnisse und vor allem die natürlichen Bedingungen für die Infektion richtig abzuschätzen, bei einer Bewertung des Zahlenmaterials gewisse Schwierigkeiten und beeinträchtigt die Bedeutung derartiger Statistiken.

Die in Deutschland gebräuchlichste und auch wissenschaftlich am besten begründete Methode der Schutzimpfung für Typhus und Cholera ist die von Pfeiffer & Kolle. Als Impfstoff dienen frische Agarkulturen, die in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und $1^1/_2$—2 Stunden bei 60^0 sterilisiert werden. Pfeiffer & Marx[417b] haben gezeigt, daß derartige Impfstoffe, mit $^1/_2$ Proz. Phenol aufbewahrt, wenigstens 2 Monate haltbar sind. Nach Pfeiffer & Kolle sollen bei Typhus drei Injektionen stattfinden. Dosis für die erste Injektion eine Oese, zweite Injektion zwei Oesen, dritte Injektion drei Oesen. Bassenge & Rimpau[418] empfehlen von dem gleichen Impfstoff wesentlich kleinere Dosen, nämlich $^1/_{30}$, $^1/_{15}$ und $^1/_5$ Oese. Die lokalen Symptome nach der Injektion bestehen in mehr oder weniger starken Schwellungen und Entzündungen an der Injektionsstelle. Auch die regionären Lymphdrüsen sind geschwollen. Die allgemeinen Symptome bestehen in Fieber, Abgeschlagenheit; Dauer des Fiebers 12 Stunden bis 3 Tage. Die Erfolge mit der aktiven Immunisierung des Menschen sind nach den Angaben von Steudel[419], Schyan[420], Eichholz[421], Kuhn[422] günstig gewesen, sowohl bezüglich der Mortalität, wie der Morbidität und Letalität. Die größten Verdienste um die Ausgestaltung der Typhusimpfung hat sich wohl Wright[423] erworben, der zugleich auch über das größte statistische Material verfügt. Seine Methode entspricht im Prinzip der von Pfeiffer-Kolle, nur sind die von ihm angewandten Dosen erheblich geringere. Er spritzt 750

bis 1000 Millionen getötete Bakterien subkutan und nach 11 Tagen eventuell noch einmal die doppelte Dosis. WRIGHT legt großen Wert auf die genaue Dosierung. Es erscheint aber fraglich, ob derartige mühselige und im Grunde ja doch nie ganz zuverlässige Standardisierungsmethoden einen Zweck haben, ja ob eine derartige exakte Standardisierung, wie sie WRIGHT wenigstens anstrebt, überhaupt notwendig ist. Eine Typhuskultur stellt bei Verwendung desselben Stammes, geschweige denn bei Verwendung verschiedener Stämme, bezüglich ihrer Virulenz, ihrer Toxizität für den Menschen keine konstante Größe dar, und wir wissen, daß diese Qualitäten unter Umständen schon von einem zum anderen Tage großen Schwankungen unterliegen können. Unter diesen Verhältnissen scheint auch eine weniger exakte Dosierungsmethode, wie etwa die Oesenabmessung oder die ungefähre Wägung der Bakterienmasse in feuchtem Zustande für die Dosierung hinlänglich zu genügen, zumal ja doch stets Dosen gegeben werden sollen, die von der letalen weit entfernt liegen müssen.

Nach WRIGHTS Untersuchungen folgt der Einspritzung des Vaccins in nicht seltenen Fällen eine negative Phase, d. h. eine Verarmung des Blutes an Schutzstoffen. WRIGHT führt diese Erscheinung, die auch namentlich deutlich bei den Revaccinationen auftritt, auf Grund der EHRLICHschen Theorie darauf zurück, daß die eingeführten Antigene die im Blut kreisenden normalen Antikörper oder durch die vorhergehende Immunisierung erzeugten Immunantikörper verankern.

Es ist nach dieser Feststellung klar, daß die negative Phase um so größer sein muß, je größer die Impfstoffdosis ist. Nach kolossalen Vaccinmengen vermißt dann auch WRIGHT die Bildung von Antigenen überhaupt (dauernde negative Phase). Bei mittleren Impfstoffmengen folgt die positive Phase, d. h. der Anstieg erst nach einer negativen Phase von ca. drei Wochen Dauer. Bei kleinen Dosen fällt die negative Phase gänzlich weg, es beginnt sogleich der Anstieg des Titers. Aus diesen Tatsachen zieht WRIGHT folgende praktischen Konsequenzen: Zu starke Dosen Impfstoff sind überhaupt zu vermeiden. Mittlere Dosen sind nur dann zu verabreichen, wenn der Schutzgeimpfte frühestens erst später als drei Wochen nach der Impfung Gelegenheit hat, sich der Infektion auszusetzen. Besteht diese Gefahr unmittelbar, d. h. bei Impfungen im Typhusgebiet selbst, so sollen nur kleine Dosen verwendet werden, die keine negative Phase verursachen. Aber in solchen Fällen ist noch eine stärkere Dosis nach Verlauf einer gewissen Zeit zu verabreichen.

Tierversuche von PFEIFFER & FRIEDBERGER[424] lassen es fraglich erscheinen, ob eine negative Phase im Sinn einer erhöhten Empfänglichkeit im Anschluß an die Impfung überhaupt existiert.

Eine Verarmung des zirkulierenden Blutes an spezifischen Stoffen durch die Vaccination, besonders bei Verwendung großer Dosen, namentlich auch bei der Revaccination ist theoretisch nach EHRLICH wohl begründet und daß sie in der Tat zutage treten kann, dafür sprechen, neben den Beobachtungen WRIGHTS selbst, die Kurven, die BRIEGER & EHRLICH[425] über die Schwankungen des Tetanusantitoxingehaltes in der Milch einer Ziege während der Immunisierung veröffentlicht haben, die analogen Kurven von SALOMONSEN & MADSEN[426] über Diphtherieantitoxin bei einem Pferd, die Kurven von MORGENROTH[427] über Antilab, von BULLOCH & SACHS[428] über Hämolysine, von

Jörgensen & Madsen[429] über Agglutinine, von v. Dungern[430] über Majapräzipitin. Es fragt sich nur, ob dieser negativen Phase auch in praxi für den Menschen eine Bedeutung zukommt, d. h. ob bei Dosen, wie sie hier verwendet werden, die Verarmung des zirkulierenden Blutes an Antikörpern überhaupt zustande kommt und ob eine erhöhte Empfänglichkeit für Infektion resultiert, wodurch allein die theoretisch höchst interessante Tatsache eine praktische Bedeutung erhielte und es rechtfertigen würde, daß ihr bei der Technik des Immunisierungsverfahrens jene Rolle zugeteilt wird, die Wright ihr vindiziert.

Das Experiment am Tier vermag hier einen gewissen Aufschluß zu geben. Pfeiffer & Friedberger[424] haben Meerschweinchen zur Entscheidung dieser Frage mit hohen Dosen von Cholera- und Typhusvaccin subkutan vorbehandelt und nachher die Empfindlichkeit dieser Tiere im Vergleich zu Kontrollen gegenüber der intraperitonealen Infektion geprüft. Da ergab sich denn nach den Tierversuchen, daß im Anschluß an die Immunisierung selbst innerhalb der ersten 24 Stunden keine erhöhte Empfindlichkeit bestand, sondern im Gegenteil eine vermehrte (allerdings nicht spezifische) „Resistenz".

Eine gewisse Gefahr der Schutzimpfung besteht aber doch darin, daß eine bereits vorhandene latente und unter Umständen latent gebliebene Infektion im unmittelbaren Anschluß an die Vaccination zum Ausbruch kommt (Leclainche & Vallé[431]).

Es kann aber auch, was nicht selten bei den Schutzimpfungen bei Tieren der Fall ist, eine andersartige Infektion zum Ausbruch kommen, z. B. bei Rotlaufimpfung des Schweines, Suipestifer oder Pasteurella (Leclainche[432]).

Die Symptome bei der Wrightschen Impfung entsprechen denen mit der Methode von Pfeiffer & Kolle. Auch die statistischen Resultate sind etwa die gleichen und es findet gleichfalls ein erheblicher Anstieg der bakteriziden Antikörper statt.

Löffler empfiehlt als Impfstoff vollkommen getrocknete und dann auf 120° erhitzte Bakterien. Friedberger & Moreschi[387] haben mit dieser Methode eingehende Untersuchungen am Menschen angestellt und die minimale Menge von Bakterien bestimmt, die imstande ist, noch Antikörperproduktion hervorzurufen. Die Autoren wählten die wirksame intravenöse Einspritzung. Die Resultate sind aus der folgenden Tabelle (S. 343) ersichtlich.

Ueber die Dauer des Impfschutzes wurden bei Fall I und VIII Untersuchungen angestellt. $2^1/_2$ Monate nach der Impfung hatte das Serum der Versuchsperson I noch einen Titer von 1—5 mg, das von VIII einen Titer von 5—10 mg.

Die Methode liefert, obwohl über 6—24000mal geringere Bakterienmengen verwendet wurden als nach dem Verfahren Pfeiffer-Kolle, im Durchschnitt die gleichen Werte wie jenes Verfahren und weit höhere wie die Wrightsche Methode. Ob die Methode auch für die Praxis dem Verfahren von Pfeiffer-Kolle als gleichwertig zu erachten ist, darüber könnten erst ausgedehnte Erfahrungen einen Aufschluß geben. Ein wesentlicher Vorteil dürfte darin bestehen, daß bei dem nach Löffler bereiteten Impfstoff Veränderungen infolge Autolyse bei längerer Aufbewahrung ausgeschlossen sind. Es ist dies auch der einzige Impfstoff, bei dem infolge der Möglichkeit einer exakten Wägung eine exakte und gleichmäßige Dosierung

möglich ist. Die Injektion in die Blutbahnen ist zwar technisch etwas umständlich, aber dafür bietet sie den unbestreitbaren großen Vorteil, daß die störenden lokalen Reaktionen gänzlich wegfallen, die allgemeinen Reaktionen sind in ihrer Intensität etwa die gleichen, wie sie durch den Impfstoff von PFEIFFER-KOLLE hervorgerufen werden.

Nr. der Versuchsperson	Impfstoffmenge in		Maximum der Körpertemperatur	Agglutination		Bakteriolyse	
	Oesen	mg		Normalserum	Immunserum	Normalserum	Immunserum
I	1/50 Sprung	0,0156	38.5	10 —	160 ±	> 0,1	0,005 — 0,001
II	1/500 „	0,00156	39,1	10 —	40 +	0,01 0,05	0,005 — 0,01
III	1/500 „	0,00156	38,3	10 ±	10 +	> 0,1	> 0,01
IV	1/500 „	0,00156	39,0	10 —	40 ±	—	—
V	1/1000 „	0,00078	kein Fieber	10 —	160 ±	0,05 — 0,1	0,001 — 0,005
VI	1/1000 „	0,00078	38,4	10 ±		> 0,05	— 0,01
VII	1/1000 „	0,00078	38,1 Schüttelfrost	10 —	10 —	—	—
VIII	1/50 Gießen	0,0156	Temperatur nicht gemessen	10 —	40 +	—	0,001 — 0,005
IX	1/100 „	0,0078	38,8	—	—	—	—
X	1/100 „	0,0078	39,1	—	—	—	—
XI	1/1000 „	0,00078	38,3	10 —	1280 +	0,01 — 0,05	0,001 — 0,005
XII	1/2000 „	0,00039	37,8	10 —	80 ±	—	—
XIII	1/2000 „	0,00039	37,6	10 —	80 +	—	—
XIV	1/4000 „	0,000195	kein Fieber	10 —	80 +	0,01 — 0,05	0,001 — 0,005

LEVI & BLUMENTHAL[433] haben eine möglichst schonende Abtötung der Bakterien zur Impfstoffgewinnung durch Behandeln der Bakteriensuspension mit Galaktose oder mit Harnstoff erzielt.

RUSSEL[434] immunisiert mit bei 53° abgetöteten Typhusbakterien (nach LEISHMAN). Mit derartigem Material versuchten COURMONT & ROCHAIX[435] auch vom Darm aus zu immunisieren. (3 Klysmata in 5-tägigem Intervall jedesmal 100 ccm.)

Methoden, die wirksamen Antigene aus den Vollbakterien zu extrahieren.

Eine Reihe von Autoren haben versucht, die wirksamen Antigene aus den Bakterien zu extrahieren. Sie gingen dabei von der Erwägung aus, daß die Vollbakterien neben dem eigentlichen immunisierenden Prinzip eine Menge von Ballast enthalten, den bei der Injektion der Körper verarbeiten muß und der wohl zum Teile an den hier als überflüssig erscheinenden unangenehmen Reaktionen schuld ist. Vor allem war aber dabei die Ueberlegung leitend, daß die giftigen Bestandteile des Bakterienleibes vielleicht von dem immunisierenden Anteile ganz verschieden sein könnten. Von diesen Ge-

sichtspunkten aus wurde eine Reihe von Verfahren empfohlen, bei denen an Stelle der Vollbakterien verschieden verarbeitete Bakterienprodukte, Auszüge usw. zur Verwendung kamen.

Es muß darauf hingewiesen werden, daß ein derartiger Modus procedendi gerade für die Bereitung einer bakteriolytischen Serums a priori recht wenig rationell erscheint.

Das bakteriolytische Serum ist ein solches, das sich gegen den Bakterienleib in toto richtet und es enthält natürlich auch entsprechend dessen komplexer Konstitution eine ganze Reihe von Partiallysinen. Es wird aber um so wirksamer sein, je mehr es von diesen Partialantikörpern enthält und am wirksamsten dann sein, wenn es sie alle enthält, d. h. durch Behandlung mit allen Bakterienbestandteilen i. e. mit Vollbakterien erzeugt ist. Solange wir über die wahre Natur der Antigene noch nichts wissen, dürften Methoden, die eine Isolierung der Antigene erstreben, für die Praxis verfrüht erscheinen und kaum zu empfehlen sein, zumal bei einer Infektion wie dem Typhus, bei dem man ja nicht durch direkte Infektionsversuche den Erfolg der Impfung kontrollieren kann, um damit ein solches Verfahren auf eine sichere Basis zu stellen.

Noch auf einen Punkt ist ferner hinzuweisen. Offenbar löst das extrahierte Bakterienprotoplasma wegen der erleichterten Resorption und des dadurch bedingten starken Reizes eine sehr hohe Antikörperproduktion aus, wie dies wenigstens aus den hohen Titerwerten von Neisser & Shiga, Macfadyen & Rowland, Brieger & Mayer hervorzugehen scheint. Wie sich aber aus den Resultaten von Macfadyen & Rowland, von Brieger & Mayer ergibt, ist dieser hohe Schutzwert von auffallend geringer Dauer. Bei einem Kaninchen z. B. von Brieger & Mayer zeigte sich acht Tage nach Schluß der Vorbehandlung ein Titer von $^1/_{25\,000}$; nach weiteren acht Tagen nur noch $^1/_{15\,000}$, nach zwei Monaten $> {}^1/_{200}$. Es gewinnt aus derartigen Versuchen den Anschein, als ob die erleichterte Resorption in praxi gar keinen wesentlichen Vorteil darstellt. Denn die allmähliche Resorption von Vollbakterien scheint eine längere Dauer der Immunität zu garantieren. Für die Praxis aber kommt eben nicht nur einmaliger hoher Titerwert, sondern auch eine gewisse zeitliche Dauerhaftigkeit der Immunität in Frage. Es ist daher für gewöhnlich ein Verfahren zu wählen, das nicht nur einen momentan hohen, sondern auch einen zeitlich ausgedehnten Schutz gewährt. (Diese Verhältnisse zeigen, wie bedenklich es unter Umständen sein kann, nur aus den kurze Zeit nach der Impfung beobachteten Titerwerten sich ein Urteil über den Wert eines Verfahrens zu bilden.)

Methoden, die an Stelle der vollen Bakterien Extrakte benutzten, sind von Macfadyen & Rowland, Neisser & Shiga, Brieger & Mayer, Bergell & Mayer[438] angegeben. Macfadyen & Rowland zerrieben die bei minus 190° gefrorenen Bakterien. Neisser & Shiga benutzten das Filtrat von der Autolyse unterworfenen Kulturen. Brieger & Mayer extrahieren mit destilliertem Wasser im Schüttelapparat und benutzen die Kerzenfiltrate, die ihrer Meinung nach im wesentlichen nur die Antigene enthalten, nicht aber die giftigen Endotoxine, was jedoch Bischoff[438a] nicht bestätigen konnte. Bergell & Mayer behandeln getrocknete Typhusbakterien mit wasserfreier Salzsäure. Nach Neufeld[439] wirken die durch Immunserum und Komplement in Lösung gegangenen Bakteriensubstanzen noch antigen;

die Granula besser als der völlig in Lösung gegangene Anteil. Die nach Behandlung mit 1-proz. Kalilauge zurückbleibenden Hüllen wirken dagegen nicht antigen.

Serumvaccination nach Besredka.

Sowohl die aktive wie die passive Immunisierung haben gewisse Nachteile. Bei der passiven Immunisierung tritt der Schutz sehr bald nach Einverleibung des Immunserums ein, ist aber, wie das aus den Untersuchungen von A. Schütze[440], sowie Pfeiffer & Friedberger[441] sich ergibt, besonders bei Verwendung heterologer Immunsera nur von sehr kurzer Dauer.

Andrerseits wird zwar bei aktiver Immunisierung ein Schutz für lange Zeit hin erzielt, doch treten die Schutzkörper erst relativ spät nach stattgehabter Impfung auf, ja der Impfung soll nicht selten zunächst eine Periode erhöhter Empfindlichkeit folgen (negative Phase, s. jedoch S. 342).

Diese Umstände veranlaßten Besredka[442], [443], auch für die Typhusschutzimpfung eine Methode der Immunisierung zu suchen, die die Vorteile beider Prinzipien ohne ihre Nachteile darbot.

Er fand sie in der Kombination beider Verfahren, d. h. in der Serovaccination, die ja schon zuvor für andere Infektionskrankheiten mit Erfolg angewandt war (Lorenz[444], [445], Leclainche[446]).

Dabei beschränkte er sich darauf, nur so viel vom Immunserum gleichzeitig mit dem Impfstoff zu injizieren, als von den Bakterien bei vorherigem Kontakte mit dem Serum gebunden wurde.

Aufschwemmung 48-stündiger Agarkulturen in möglichst wenig physiologischer Kochsalzlösung. Zusatz des homologen Immunserums. Nach 12-stündigem Kontakt (Agglutination) wird das Serum abgegossen, die Bakterien werden mehrmals in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen (die Waschung darf nach Besredka nicht zu lange dauern, da die lange Mazeration in physiologischer Kochsalzlösung die Wirksamkeit des Impfstoffes beeinträchtigt), darnach eine Stunde bei 56° abgetötet.

Ein derartig präparierter Impfstoff ruft zunächst beim Versuchstier selbst in großen Dosen bei subkutaner Injektion nicht die Entzündungserscheinungen hervor, wie die gleiche Menge unbeladenen Impfstoffes.

Bereits 24 Stunden nach der subkutanen Injektion der beladenen Bakterien (eine Kultur) ist das Meerschweinchen immun.

Die Dauer der Immunität beträgt sicher wenigstens fünf Monate.

Auch durch Triglia & Mazzuoli[447] wurde die Serovaccination mit einem Präparat von Sclavo in 98 Fällen ausgeführt. Der Impfstoff bestand aus einer Lösung „freier Rezeptoren", die zu gleichen Teilen mit Serum eines immunisierten Schafes versetzt war.

Fichera[448] bestätigt die Tatsache, daß reichlich mit Ambozeptor beladene Bakterien keine Antikörper bilden im Sinne von Pfeiffer & Friedberger, wohl aber weniger beladene nach Besredka.

Levy & Aoki[449] empfehlen die Serovaccination für die Pneumonie.

Bei der Cholera ist im großen nur ein am Menschen von Haffkine[450] ausgearbeitetes Verfahren angewandt worden, das sich im Prinzip von den eben angegebenen von Wright sowie Kolle insofern unterscheidet, als die Vorbehandlung mit lebenden Bak-

terien zunächst mit einem schwächeren Vaccin und später mit einem virulenteren Virus fixe erfolgt. Es sei noch erwähnt, daß die ersten Versuche der Schutzimpfung gegenüber Cholera beim Menschen von Ferran[400, 401] angestellt sind, dann von Fedorow[451], Klemperer[452]. Die ersten exakten Immunisierungen rühren von Kolle[453] her.

Aggressinimmunisierung.

Eine besondere Art der Immunisierung glauben Bail[454, 455], Bail & Weil[456], Hüppe & Kikuchi[457], Levy & Fornet[458] und viele andere durch Vorbehandlung mit Aggressinen zu erzielen. Diese Immunität soll nach Bail verschieden von der bakteriziden Immunität und dieser überlegen sein.

Die diesbezüglichen Versuche Bails sind aber nicht beweisend, da er mit Aggressin aktiv immunisierte Tiere mit durch bakterizides Serum passiv vorbehandelten vergleicht (Friedberger[364]).

Tatsächlich handelt es sich hier um eine aktive Immunisierung mit den in der Aggressinflüssigkeit enthaltenen Bakterienleibessubstanzen, wie das namentlich Doerr betont hat.

Ballner[459] kommt ebenso wie Erben[460] zu dem Schlusse, daß die Immunisierung mit Aggressin keinen Fortschritt bedeute. Auch er hält die Aggressine nur für ausgelaugte Bakteriensubstanz oder Stoffwechselprodukte, ebenso Huntemüller[461], ihm gelang die Immunisierung nicht nur vermittels Aggressin, sondern auch durch Bakterienleiber, die vorsichtig bei 44° erhitzt worden waren. Er hält die theoretischen Grundlagen von Bail nicht für richtig, sieht aber in seiner Immunisierungsmethode einen großen Fortschritt.

Daß dem tatsächlich so ist, zeigen vor allem die Versuche von Wassermann & Citron[462] über die Immunisierung mit künstlichen Aggressinen.

Bei Bakterienarten, bei denen die Impfung mit abgetöteten Vaccins ohne Erfolg ist und bei denen die Immunisierung mit lebenden Mikroorganismen wegen der hohen Pathogenität ausgeschlossen ist (Septikämieerreger), ist tatsächlich die Immunsierung mit „natürlichen oder künstlichen“ Aggressinen wie Wassermann & Citron erkannt haben, als Methode von hoher Bedeutung; doch ist auch nach ihnen die dabei erzielte Immunität keine besondere, von der durch Bakterien erzeugten verschiedene.

Speziell bei Schweineseuche erwiesen sich künstliche Aggressine (d. h. in destilliertem Wasser geschüttelte und dann durch keimdichte Kerzen filtrierte lebende Kulturen) ebenso wirksam als wie Weils natürliches Aggressin (sterilisiertes Exsudat eines mit Schweineseuche in der Pleurahöhle injizierten Kaninchens oder Oedemflüssigkeit der infizierten Schweine selbst).

Citron[462, 463] stellt ähnlich wie gegen Schweineseuche auch Aggressine gegen Schweinepest her, wie folgt:

1) Ein „künstliches Aggressin“ durch Schütteln einer Kolleschale mit Bakterien zwei Tage lang im Dunkeln bei Zimmertemperatur mit 10 ccm destilliertem Wasser, Zusatz von $^1/_2$ Proz. Phenol zu dem Zentrifugat oder Zusatz von Chloroform, das man nachher bei 44° verjagen kann.

2) „Natürliches Aggressin“, hergestellt in entsprechender Weise mit dem Pleuraexsudat von infizierten Kaninchen.

Citron & Petzsch[464] haben dann die Versuche auch auf die Geflügelcholera, auf die Wild- und Schweineseuche ausgedehnt, sowie auf die Wild- und Rinderseuche. Näheres über Aggressinimmunität s. bei Sauerbeck[465].

Im nachstehenden sollen nun die bei der Immunisierung entstehenden Antikörper, ihre Eigenschaften und der Modus ihrer Wirkung näher besprochen werden.

Der Immunkörper.

Die chemische Natur der Antikörper.

Emmerich, Tsuboi, Steinmetz & Löw[466, 467] haben in dem Blute eines gegen Typhus immunisierten Hundes die wirksame Substanz im Serumalbumin gefunden und glauben, daß die Bakterizidie ein rein chemischer Vorgang sei, beruhend auf einer spezifischen Eigenschaft des Alkaliserumalbuminats. Demgegenüber konnten Pfeiffer & Proskauer zeigen, daß im Gegenteil das wirksame Prinzip des Immunserums bei der Fällung mit Magnesiumsulfat zum größeren Teil am Globulin haftet und nur in geringen Mengen am Albumin, der Rest ist im Filtrat nachweisbar.

Die Antikörper haben jedoch, wie Pfeiffer & Proskauer[468] betonen, mit den Eiweißkörpern selbst nichts zu tun, werden vielmehr nur bei der Fällung mechanisch mit ihnen niedergerissen, denn nach Entfernung dieser Eiweißkörper durch Verdauung hat die übrigbleibende Flüssigkeit noch eine erhebliche Wirksamkeit. Ebenso tritt eine quantitative Einbuße an Schutzkraft des Serums nicht ein durch Entfernung der Nukleoalbumine bzw. Nukleine (Pfeiffer & Proskauer).

Die Albumosen und Peptone des Serums sind ebenfalls nicht die Träger der spezifischen Wirkung. Das gleiche gilt von den stickstoffhaltigen und stickstofffreien dialysierbaren Stoffen des Blutes, im Gegensatz zu denen, die Antikörper nicht dialysieren.

Wichtig für die Auffassung der chemischen Natur der Immunkörper ist die Beobachtung der beiden Autoren, daß 3 Monate lang unter oft gewechseltem Alkohol gehaltene gehärtete Mengen von Immunserum durch Auslaugen mit destilliertem Wasser ein Produkt lieferten, das sehr reich an Choleraimmunkörper, aber fast eiweißfrei war.

Pfeiffer & Proskauer sind daher der Ansicht, daß die Choleraantikörper fermentartige Stoffe sind, die aber in spezifischer Weise auf ein bestimmtes Bakterienprotoplasma abgestimmt sind. Ein Analogon stellen die Fermente der Hefezellen dar, die nach Untersuchungen von Emil Fischer nur Zucker von bestimmter chemischer Konstitution angreifen, während sie andere intakt lassen *).

Für die Fermentnatur der Immunkörper spricht auch die Tatsache, daß sie bei der Bakteriolyse nicht verbraucht werden in Analogie mit echten Fermenten (s. S. 558).

Die Haltbarkeit scheint nach den vorliegenden Tatsachen eine fast unbegrenzte zu sein, denn die im Jahre 1895 von Pfeiffer zu seinen Versuchen benutzten Ziegensera, die mit $^1/_2$ Proz. Phenolzusatz im Eisschranke aufbewahrt

*) Die Differenzierung in der Spezifizität der Fermente kann sogar noch weitergehen. Das Methylgykosid z. B. kommt in einer α- und in einer β-Form vor, die beide die gleiche Konstitution haben und sich nur durch die Stellung des Methylradikals im Molekül unterscheiden. Nach Fischer vermag nun das Emulsin der bitteren Mandeln nur das β-Methylglykosid zu spalten, die Maltase des Malzes nur das α-Methylglykosid, nicht die β-Form zu zerlegen.

worden waren, hatten, wie die Untersuchungen von Mertens[469] aus dem Jahre 1900 beweisen, ihre Wirksamkeit unverändert beibehalten. Auch nach weiteren 5 Jahren war der Titer dieser Sera nach meinen Untersuchungen unverändert geblieben. $^1/_{15}$ mg eines derartigen Serums Meerschweinchen mit der 10-fach tödlichen Dosis von Choleravibrionen ins Peritoneum gebracht, bewirkt rapide Auflösung der Vibrionen.

Selbst 20-stündige Einwirkung einer Temperatur von 60° schädigt die Antikörper kaum, wohingegen einstündige Erhitzung auf über 70° sie fast vollständig vernichtet und einmaliges Aufkochen sie gänzlich zerstört. Gegenüber Fäulnisbakterien scheinen die Antikörper ziemlich resistent zu sein. Sie sind ebenso wie die Antitoxine nicht dialysierbar.

E. P. Pick[470] fand die bakteriolytischen Immunkörper des Choleraimmunserums bei der von ihm angewandten Fällungsmethode durch Halbsättigung mit Ammonsulfat ausschließlich in der Euglobulinfraktion. Zu den gleichen Resultaten kam Rodhain[471] bei seinen Untersuchungen mit Antistreptokokkenserum und Fuhrmann[472] bei Versuchen über die hämolytischen Antikörper.

Wolff[473], der im Pfeifferschen Institut die Arbeit Picks einer Nachprüfung unterzogen hat, konnte dessen Angaben nicht bestätigen. Er fand, daß neben der Euglobulin- auch die Fibrinoglobulinfraktion Immunkörper enthielt, daß aber etwa die Hälfte der Immunkörper in das Filtrat überging, wo sie nach seinen Beobachtungen durch die Einwirkung des Ammonsulfats relativ schnell zerstört wurde, so daß es den Anschein gewinnen kann, als ob das Filtrat frei von Immunkörpern wäre. Im übrigen verteilen sich die Immunkörper auf die Eiweißfraktionen nach Wolffs Untersuchungen, wie folgt:

Fibrinoglobulinfraktion	ca. $^1/_5$
Euglobulin und Fibrinoglobulin	„ $^3/_8$
Gesamtglobulin	„ $^1/_2$

In einer Entgegnung hält Pick[474] die Richtigkeit seiner Resultate gegenüber Wolff entschieden aufrecht.

Die Bildungsstätte der bakteriolytischen Immunkörper und die Bedingungen, die ihre Bildung beeinflussen.

Die Bildungsstätte der bakteriziden Schutzstoffe wurde beim Kaninchen für Cholera durch Untersuchungen von Pfeiffer & Marx[474a], von Wassermann[475] für Typhus entdeckt.

Bei dieser Tierspecies findet, wie erwähnt, nach Pfeiffer & Marx eine rapide Bildung der Antikörper statt. Die Autoren gingen nun von der Erwägung aus, daß deren Produktion rascher vor sich gehen würde als ihre Abgabe an das Blutplasma, und daß es daher gelingen würde, sie anfangs in denjenigen Organen, die den Bildungsort darstellen, in stärkerer Konzentration als in den übrigen Teilen des Organismus nachweisen. Es wurden zu diesem Zwecke Extrakte der verschiedenen Organe zu verschiedenen Zeiten nach erfolgter Immunisierung der Kaninchen quantitativ auf ihren Schutzwert untersucht und mit dem Schutzwert des Serums des betreffenden Tieres verglichen. Bei diesen Versuchen ergab es sich, daß die Milz in der ersten Zeit nach der Vaccinierung einen bedeutend höheren Titer aufwies als das Serum, daß selbst zu einer Zeit, wo im Serum noch keine bakteriolytischen Antikörper nachweisbar waren, 24 Stunden nach der Impfung, die Milz bereits nicht unbeträchtliche Mengen dieser Stoffe enthielt.

Wenn man erwägt, daß diese Organe zum Teil sehr blutreich sind, so ergeben sich für das Parenchym noch viel höhere Werte.

Um die Frage zu entscheiden, ob die Schutzstoffe in der Milz autochthon entständen, oder dort nur zunächst deponiert würden, haben Pfeiffer & Marx Tieren Immunserum injiziert und fanden keine größere Anhäufung der Schutzstoffe in der Milz. Im zeitlichen Fortschreiten des Immunisierungsprozesses nimmt der Antikörpergehalt der hämatopoetischen Organe ab, der des Serums zu, bis ein Gleichgewicht hergestellt ist. Aus diesen Versuchen schließen die Autoren mit Recht, daß die betreffenden Organe die Bildungsstätte der Immunkörper darstellen, zumal die übrigen: Gehirn, Medulla oblongata, Rückenmark, Speicheldrüsen, Nieren, Nebennieren, Leber, Thymus, Ovarien und Muskeln, anfangs weniger Schutzstoffe als das Serum enthalten. Ebenso ergab sich die

bemerkenswerte Tatsache, daß die Leukocyten des Blutes sowie Eiterkörperchen von künstlich erzeugten Exsudaten einen bedeutend geringeren Titer aufweisen als das Serum.

Trotzdem die Milz nach den Untersuchungen von PFEIFFER & MARX eine so bedeutende Rolle beim Zustandekommen der Immunität spielt, so tritt doch auch bei entmilzten Tieren ein hoher Titer ein, indem andere Organe vikariierend für die Milz eintreten. Das vikariierende Eintreten dieser Organe bleibt jedoch in größerem Umfange nach den Untersuchungen von DEUTSCH aus, wenn die Milz erst entnommen wird, nachdem die Immunkörperbildung schon begonnen hat (3—5 Tage nach der Impfung).

Die Untersuchungen von PFEIFFER & MARX bei Cholera und die von WASSERMANN an gegen Typhus immunisierten Kaninchen wurden sodann noch durch DEUTSCH[476] bei Typhus und durch CASTELLANI[477] bei Dysenterie bestätigt.

Nach METSCHNIKOFFs Beobachtungen findet während der Immunisierung eine Vermehrung der polynukleären Leukocyten statt. Er und DEUTSCH nehmen nun an, daß es die mit den Bakterienprodukten beladenen Leukocyten sind, die von der Infektionsstelle nach Milz und Knochenmark auswandern und die Schutzstoffe als Endprodukt der intracellulären Verdauung ausscheiden. Für die Annahme, daß in den hämatopoëtischen Organen wirklich den Leukocyten die Bildung der bakteriolytischen Antistoffe obliegt, fehlt jedoch der Beweis.

Wenn es auch erwiesen ist, daß Knochenmark, Milz und Lymphdrüsen die hauptsächlichsten Bildungsstätten der bakteriolytischen Antikörper sind, so sind sie es doch keineswegs allein. Untersuchungen über Abrinantitoxine von RÖMER[478], der in dem primär geschädigten Conjunctivalsack die Bildung des Antiabrins nachwies, und Experimente von v. DUNGERN[479], der lokale Präzipitinbildung gegen Majablut in der vorderen Augenkammer des Kaninchens demonstrierte, dürfen uns wohl auch bezüglich der bakteriolytischen Antikörper den Schluß erlauben, daß die verschiedensten Zellarten Antikörper liefern können.

In diesem Sinne haben WASSERMANN & CITRON[480, 481] allgemein den Nachweis zu erbringen geglaubt, daß in erster Linie an der Infektionsstelle durch die dortigen Zellen die Antikörperbildung statt hat, und sie haben speziell diese Fähigkeit für das Pleuraendothel nachgewiesen.

Doch wird neuerdings in einer Arbeit von PAETSCH[482] aus dem PFEIFFERschen Institut das wieder bestritten.

Auch HEKTOEN[483] konnte bei seinen Versuchen in der vorderen Augenkammer, in Pleura und Peritoneum sowie in der Subcutis keine Antikörperbildung nachweisen.

Untersuchungen von FRIEDBERGER & GIRGOLAFF[484] sowie von GIRGOLAFF[485] mittels Implantation verschiedener möglichst blutfreier Organe immunisierter Tiere in die Bauchhöhle normaler haben dargetan, daß neben der Milz doch auch anderen Organen die Fähigkeit der Antikörperbildung zukommen muß. Denn nach Einheilung implantierter Nierenstücke trat eine erneute Antikörpersekretion auf. Entsprechende Kontrollversuche lassen es ausgeschlossen erscheinen, daß etwa Antigenreste in den implantierten Organstückchen aktiv immunisierten.

Allerdings erwies sich die Milz im Sinne von PFEIFFER & MARX anderen Organen überlegen.

HECK[486] stellte vergleichende Untersuchungen an über die Lebensdauer von Typhusbakterien bei normalen und immunisierten Tieren nach intravenöser Injektion. Beim normalen Tier: Verschwinden der Bakterien aus dem Blut nach 6 Stunden. Lunge und Niere enthalten sie bis zu 3 Tagen, Leber noch nach 5 Tagen, Milz noch nach

20 Tagen, Knochenmark bis zu 60 Tagen. Beim immunisierten Tier verschwinden die Bakterien bedeutend schneller. Am dritten Tag sind alle Organe steril. Das schnellste Verschwinden aus dem Knochenmark und aus der Milz spricht dafür, daß diese Organe im Sinne von R. Pfeiffer sowie Wassermann die Bildungsstätte der Antikörper sind. Am längsten hielten sich auch bei immunisierten Tieren die Typhusbakterien in der Leber.

Sind die Schutzstoffe im Serum in aktiver Form enthalten?

Weitere sehr interessante Aufschlüsse über die Antikörper lieferten die Bestrebungen, nun auch in vitro die Bakterizidie des Serums zu studieren.

Die im Eingange geschilderte bakterizide Eigenschaft des Normalserums, die, wie gezeigt, immerhin eine gewisse Abhängigkeit der natürlichen Immunität vom bakteriziden Vermögen erkennen läßt, gestattet die Vermutung, daß auch die Antikörper der Immunsera, wie Pfeiffer sagt, „geradezu als Desinfiziens" auf die Einsaat entsprechender Bakterien wirken mußten.

Es ergab sich jedoch, daß das hochwertige Serum von Cholerakonvaleszenten in vitro und ebenso das hochwertige Choleraziegenserum zwar in Bestätigung der älteren oben angeführten Beobachtungen auch nach den späteren Untersuchungen von Sobernheim[487] in vitro wirksamer war als das Normalserum, aber in Verdünnungen, in denen jenes im Organismus noch große Mengen von Mikroorganismen glatt vernichtete, schon gänzlich ohne Effekt war.

Mit ganz frischem Serum choleraimmuner Tiere oder mit dem Peritonealexsudat konnte Pfeiffer auch im Hängetropfen eine Kügelchenbildung der Vibrionen beobachten, die jedoch weit weniger intensiv war, als im Tierkörper, und auch nie zur vollkommenen Auflösung der Bakterien führte. Durch kurzes Erhitzen auf 60° konnte er außerhalb des Tierkörpers auch die bakterizide Fähigkeit dieser Flüssigkeiten vernichten.

Derartige Beobachtungen führten Pfeiffer zu der Anschauung, daß das Immunserum in 2 Modifikationen existiert. Die im Choleraserum enthaltenen immunisierenden Substanzen, welche an sich nur schwach entwickelungshemmende Eigenschaften besitzen, betrachtet er als eine Vorstufe der erst im Meerschweinchenperitoneum durch Hinzukommen „eines gewissen Etwas" sich bildenden spezifischen bakterienauflösenden Stoffe.

In dieser beständigen Form sind die Schutzstoffe im Tierkörper aufgespeichert (ähnlich wie das Glykogen, das als die inaktive stabile Form des Traubenzuckers zu betrachten ist) und werden im Bedarfsfalle in die aktive Form umgewandelt. Diese Umwandlung erfolgt unter dem Einflusse tierischer Zellen, vor allem der Peritonealendothelien. Die Wirkung der bakteriziden Substanz ist, wie R. Pfeiffer zuerst scharf ausgesprochen hat, eine fermentartige.

Daß die Umwandlung der inaktiven Antikörper in die aktive Form nur in dem Maße erfolgt, als sie für die Vibrionenauflösung verbraucht wird, glaubte Pfeiffer durch folgenden Versuch nachweisen zu können: Ein Meerschweinchenexsudat, das nach erfolgter Auflösung der Vibrionen im Hängetropfen sich als gänzlich unwirksam erwies, war noch imstande, im Organismus des Meerschweinchens weitere Mengen von Cholerabacillen aufzulösen.

Durch die Annahme einer aktivierenden Substanz im Tierkörper selbst erklärt sich auch zwanglos die Tatsache, daß, wie R. Pfeiffer & Wassermann gefunden haben, nur bis zu einem gewissen Grade eine Proportionalität zwischen Virusmenge und Serummenge besteht, indem eben die Fähigkeit der Aktivierung im Organismus natürlich nicht unbeschränkt sein kann.

Nachdem R. Pfeiffer beobachtet hatte, daß im Körper des immunisierten Tieres die fertigen Schutzstoffe scheinbar nur in geringer Menge vorhanden sind, gelang es Metschnikoff[488, 489] zu zeigen, daß das aktivierende Prinzip auch im Peritonealexsudat normaler Meerschweinchen vorhanden ist und Bordet[490–496] wies es im normalen

Serum nach. Es gelang ihnen durch diese Stoffe dem durch Erhitzen auf 56^{0} gänzlich unwirksam gemachten Immunserum auch im Reagenzglas wieder bakteriolytische Fähigkeiten zu verleihen: („Inaktivierung — Reaktivierung"). R. PFEIFFER macht allerdings darauf aufmerksam, daß die auflösende Wirkung gegenüber der im Organismus in dieser Versuchsanordnung doch nur eine äußerst beschränkte ist.

Die Möglichkeit der Reaktivierung des Serums in vitro führte BORDET zu unserer heutigen Auffassung über die Natur der die Bakteriolyse bedingenden Faktoren: Während PFEIFFER annahm, daß das Immunserum die Schutzstoffe in einer unwirksamen Form enthalte, aus der sie erst durch die aktive Zelltätigkeit des tierischen Organismus in die wirksame Modifikation übergeführt würden, nimmt BORDET an, daß die Auflösung der Vibrionen durch das spezifische Immunserum auf der Wirkung zweier Substanzen beruht, von denen die eine (stabilere) durch einen spezifischen Immunisierungsprozeß entsteht (Antikörper, „substance préventive") und durch das Hinzutreten einer zweiten („substance bactéricide") im Normalserum vorhandenen in die aktive wirksame bakterienauflösende Form umgewandelt wird.

Der Unterschied zwischen der Auffassung PFEIFFERs und BORDETs besteht im wesentlichen nur darin, daß ersterer für die Aktivierung des Serums die Tätigkeit des tierischen Organismus für ausschlaggebend hielt, während letzterer beweisen konnte, daß die Aktivierung auch in vitro durch normale frische Körperflüssigkeiten erfolgt. Gemeinsam ist in der beiderseitigen Auffassung der komplexe Charakter des Bakteriolysins i. e. seine Zusammensetzung aus zwei Komponenten.

Durch die von BORDET selbst und dann von EHRLICH & MORGENROTH studierten analogen Verhältnisse bei der Hämolyse durch spezifische Sera wurde die Richtigkeit der BORDETschen Auffassung bestätigt.

Die EHRLICHsche Theorie.

Unsere Kenntnisse über das Verhältnis der Komponenten, die das Bakteriolysin zusammensetzen, sind dann auf Grund der genialen Seitenkettentheorie EHRLICHS[497—509] weiter entwickelt worden, zum großen Teil durch Tatsachen, die beim Studium der Vorgänge, wie sie sich in cytolytischen, speziell in hämolytischen Seris abspielen, gewonnen wurden.

Schon BUCHNER sowie DAREMBERG[510] haben als erste darauf aufmerksam gemacht, daß zwischen der keimtötenden Fähigkeit eines normalen Blutserums und der, rote Blutkörperchen einer fremden Art aufzulösen, weitgehende Analogien bestehen, weshalb BUCHNER diese beiden Funktionen einem einheitlichen „Alexin" zuschrieb.

Es hat sich aber auch ergeben, daß durch Behandlung mit Erythrocyten und anderen Zellen einer fremden Tierspecies in dem Blute des damit behandelten Tieres Prozesse ausgelöst werden, die zur Bildung von Stoffen führten, welche gegenüber den fremden Zellen in ähnlicher Weise spezifisch wirken, wie die bakteriolytischen Antikörper gegenüber den betreffenden Bakterienspecies.

Diese für das Studium der gesamten Immunitätslehre bahnbrechende Entdeckung wurde von BORDET gemacht. Zu gleichen Resultaten kamen unabhängig von ihm LANDSTEINER und v. DUNGERN.

In Anbetracht der weitgehenden Analogien, die sich zwischen cytolytischen und bakteriolytischen Immunseris ergeben haben, scheint es von Wichtigkeit, darauf hinzuweisen, daß die Uebereinstimmung doch keine absolute ist.

Blutkörperchen und andere Zellen höher organisierter Tiere sind Gebilde, die an sich eine viel weitgehendere Differenzierung erfahren haben und ganz andere funktionelle Eigenschaften besitzen wie einzellige Organismen, die selbständige Lebewesen darstellen. So besteht denn ein fundamentaler Unterschied wenigstens im Endeffekt der beiden Prozesse, der in den einschlägigen Arbeiten nicht immer genügend hervorgehoben zu werden scheint.

Bei den hämolytischen bezw. cytolytischen Prozessen handelt es sich nie um eine Auflösung, sondern nur um ein Absterben der betreffenden Zellen, das

bei den Erythrocyten z. B. im Austritt des Hämoglobins seinen markanten Ausdruck findet.

Es wäre daher für derartige Sera, nachdem auch die Ehrlichsche Schule die Tatsache betont, daß es sich nur um einen Zellentod handelt, der Name hämotoxisches Serum bezeichnender.

Bei den Bakterien handelt es sich um eine vollständige Auflösung der Zellenindividuen, wobei möglicherweise Fermente, die den Bakterien selbst angehören, die letzten Stadien des Prozesses bedingen (Danysz[513]).

Das Fehlen der völligen Auflösung der Blutkörperchen usw. wäre auf einen Mangel eines autolytischen Fermentes in den betreffenden weitgehender differenzierten Zellen zurückzuführen.

Es existiert aber in den hämolytischen Literatur nur eine einzige Beobachtung von Krompecher[514], der eine weitgehende, wenn auch nicht vollständige Zerstörung der Blutkörperchen des Frosches durch hämolytisches Kaninchenserum (gewonnen durch Vorbehandlung eines Kaninchens mit Froschblutkörperchen) beobachtet hat. Auch Landau[515] hat ähnliche Befunde erhoben.

Die Analogie zwischen hämolytischen und bakteriolytischen Prozessen besteht somit nur in den ersten Stadien. Wie dem aber auch sei, jedenfalls haben die nebeneinander herlaufenden und vielfach ineinander übergreifenden Versuche über bakteriolytische und hämolytische Sera gegenseitig die Kenntnis der betreffenden Prozesse gefördert und es können bei der Kenntnis der bakteriolytischen Prozesse die Resultate, die beim Studium anderer spezifischer Zellsera, speziell der hämolytischen, gewonnen worden sind, nicht außer acht gelassen werden.

Die geistvolle Theorie Ehrlichs, die sich für die Erforschung der einschlägigen Verhältnisse als von so großem heuristischem Werte herausgestellt hat, kann natürlich weder in ihrer Entwickelung, die zum Teil von der von Ehrlich begründeten histologischen Farbchemie ausgeht, noch in ihrem ganzen Aufbau an dieser Stelle ausführlich besprochen werden. Wir müssen uns vielmehr darauf beschränken, die Vorstellungen, die speziell über die Wirkungsweise der bakteriziden Sera in dieser Theorie niedergelegt sind, bzw. sich aus ihr ergeben, kurz zu skizzieren: ohne leider auf die ingeniösen Versuche, die fast durchgehend mit hämolytischen Seris angestellt sind, an dieser Stelle allzuviel eingehen zu können.

Nach Ehrlich stellen die spezifischen Schutzstoffe keinen dem Haushalt des Organismus ursprünglich fremden Bestandteil dar, er sieht vielmehr in der Immunität nur ein Kapitel der allgemeinen Ernährungsphysiologie.

„Der eminent zweckmäßige Modus der Bakteriolyse erklärt sich so in der einfachsten Weise als das Widerspiel uralter Protoplasmaweisheit.“ (Ehrlich.)

Nach den Anschauungen Ehrlichs, wie sie zuerst in seiner klassischen Arbeit „Ueber das Sauerstoffbedürfnis des Organismus“ dargestellt sind, besteht das Protoplasma aus einem Leistungskern und zahlreichen an diesem sitzenden Seitenketten: „Rezeptoren“ — „Haptine“. Letztere hsaben die Funktion, vermöge ihrer Konfiguration sich mit den Nahrungsstoffen chemisch zu verbinden, sofern diese zu ihnen passende Atomkomplexe besitzen, die sich zu den betreffenden Seitenketten (Rezeptoren), (nach einem Bild von E. Fischer), wie Schlüssel zum Schloß verhalten.

Ehrlich nimmt an, daß in den Zellen neben den gewöhnlichen Rezeptoren, welche der Aufnahme relativ einfacher Materialien dienen, noch eine höhere Art Rezeptoren vorhanden ist, um hochmolekulare Eiweißstoffe zu verankern. Derartige Riesenmoleküle sind an sich für die Zellernährung nicht assimilierbar, sie müssen erst durch fermentative Prozesse abgebaut werden. „Dies wird am einfachsten erreicht werden, wenn der Fangarm des Protoplasmas zugleich Träger

einer oder verschiedener fermentativer Gruppen ist („Komplemente"), die dann sofort in nahe räumliche Beziehung zu der zu assimilierenden Beute treten."

Ehrlich nimmt also für diese „Rezeptoren höherer Ordnung" zwei haptophore Gruppen an, „von denen die eine die Fesselung der Nährstoffe besorgt, während die andere komplementophil ist", d. h. befähigt ist, eine fermentartige Gruppe (Komplement) zu verankern. Allgemein bezeichnet er die Zellrezeptoren als „Haptine" und speziell die kompliziert gebauten, die eine besondere komplementophile Gruppe besitzen, als „Haptine III. Ordnung".

Es ist keineswegs die Annahme unbedingt erforderlich, daß verschiedene Formen von Haptinen existieren.

Schon Nicolle [516] nimmt nur zwei Sorten von Antikörpern an, „Koaguline" und „Lysine". Die Koaguline brauchen im Gegensatz zu den Lysinen kein Komplement, würden also den Haptinen erster und zweiter Ordnung von Ehrlich entsprechen. Man kann aber auch annehmen, daß immer nur ein Antikörper etwa vom Bau des Ambozeptors existiert, der je nach dem Komplement vorhanden ist oder nicht, in verschiedener Weise in Funktion tritt. Ohne Komplement bewirkt er nur Aenderung des physikalischen Aggregatzustandes, Ausflockung = Präzipitation bei amorphem Eiweiß — Ausflockung = Agglutination bei morphotischen Gebilden.

Erst durch Zutritt des Komplements findet dann der chemische Abbau der physikalisch bereits veränderten Antigene statt.

Dem einheitlichen komplexen Antikörper kommt danach eine doppelte Funktion zu, etwa wie dem Pepsin gegenüber dem Kasein die labende (koagulierende) und spaltende.

Auch für die Toxin-Antitoxinreaktion, die ja scheinbar anders verläuft können wir den gleichen Wirkungsmechanismus auf Grund der oben (S. 321) besprochenen Versuche Friedbergers mit Tetanus- und Schlangengift annehmen, um so mehr, als ja die Prüfung der im Reagenzglas hergestellten Toxin-Antitoxingemische im Tierkörper erfolgt, wo der Zutritt von Komplement mit Sicherheit anzunehmen ist. Daß übrigens auch bei der Koagulinreaktion im Sinne Nicolles die Komplemente begünstigend und verstärkend wirken können, zeigen die Untersuchungen von Bail [1], Eisenberg [516a], Shibayama [516b], Bürgers [517].

Kehren wir nun nach dieser Auseinandersetzung wieder zu der Darstellung der Theorie Ehrlichs zurück.

Auch die in den Körper bei einer natürlichen Infektion oder zum Zwecke der Immunisierung eingebrachten Mikroorganismen besitzen den kompliziert zusammengesetzten Nahrungsmolekülen entsprechende Atomgruppen, die zufällig eine Verwandtschaft zu den Seitenketten der Zellen besitzen. Vermöge dieser Affinität werden die betreffenden Bakteriengruppen (Bakterienrezeptoren) von den Zellrezeptoren verankert, und zwar entsprechend ihres hoch molekularen Baues von derartigen „Rezeptoren höherer Ordnung", wodurch diese ihrer natürlichen Funktion der Nahrungsaufnahme entzogen sind. Der Leistungskern, dem die eigentliche vitale Funktion der Zelle obliegt, sucht nun die durch Besetzung der Seitenkette erlittene Schädigung durch Neubildung derartiger Rezeptoren auszugleichen. Diese werden aber in solchen Fällen entsprechend einem von Weigert begründeten biologischen Gesetz im Ueberschuß gebildet, und, soweit sie für die natürliche Funktion der Zellen unnötig sind, in das Blut abgestoßen.

Pfeiffer [518] glaubt, daß das Weigertsche Gesetz die kolossale Antikörperproduktion, wie sie zuerst Kolle beim Menschen, später in Bestätigung dieser

Versuche Friedberger beim Kaninchen auf die Injektion minimaler Choleramengen beobachtet hat, nicht befriedigend erklärt. Er faßt die Antikörperbildung als eine spezifische Reaktion auf einen spezifischen Reiz auf, zumal beim Reizbegriff das Mißverhältnis von Ursache und Wirkung für unsere Auffassung nichts Ungewöhnliches darbietet.

Auch Wassermann hat sich später zu der Anschauung bekannt, daß die Bindung des Bakterienrezeptors an die haptophore Zellgruppe und damit deren Ausschaltung noch nicht zur Auslösung der Antikörperbildung genügt, daß vielmehr, wie schon v. Dungern auf Grund seiner Versuche mit Majaplasma annahm, noch ein besonderer „Reiz" erforderlich ist („Bindungsreiz"). Er beobachtete in gemeinsam mit Strong ausgeführten Untersuchungen, daß eine bestimmte Menge virulenter lebender Choleravibrionen eine viel geringere Antikörperproduktion hervorrief als die gleiche Menge, nachdem sie vorher der Autolyse unterworfen war. Diese Tatsache führt Wassermann darauf zurück, daß im zweiten Falle, wo nicht erst die Bakterien langsam und allmählich im Organismus aufgelöst zu werden brauchen, auf einen Ruck eine große Menge bindender Gruppen an die Zellrezeptoren herantritt, was als ein starker Reiz auf diese wirkt. („Bindungsreiz".)

(Ueber das Verhältnis virulenter und avirulenter Kulturen unter diesen Gesichtspunkten s. S. 574.)

Der „Bindungsreiz" hat nach Wassermann eine untere und eine obere Schwelle; er nimmt an, daß die Unmöglichkeit, gegen gewisse Bakterienarten Antikörper zu erzielen, daran gelegen sein kann, daß die Mikroorganismen, unverändert injiziert, bei der Bindung den Schwellenwert des zulässigen Reizes überschreiten und die spezifische Zellgruppe zerstören. Liegt aber die Reizstärke innerhalb gewisser günstiger Grenzen, so erfolgt eine Ueberproduktion der durch die Besetzung ausgeschalteten Zellrezeptoren.

Bruck [519] hat im Laboratorium von Wassermann die Notwendigkeit des Bindungsreizes auch für die Toxinimmunisierung nachgewiesen. Mit ganz atoxisch gemachten Toxoiden — die also wohl noch die haptophore Gruppe im Sinne Ehrlichs bewahrt hatten, gelang die Antitoxinbildung nicht.

Petterson nimmt einen ähnlichen thermolabilen Reizkörper im Typhusbacillus an.

Landsteiner & Jagic [520] fassen die Zellsubstanzen als ein in chemischem Gleichgewichte befindliches System auf und suchen die Ursache der Antikörperbildung in einer durch die reaktionsauslösenden Stoffe bedingten Störung dieses Gleichgewichtes.

Bail [521] hat bezüglich der Antikörperbildung folgende Vorstellung, die eine sehr klare und einfache Erklärung gibt. Er verzichtet auf die Annahme von Zellrezeptoren im Sinne von Ehrlich. Nach ihm bindet das Bakterienantigen die normalen Immunkörper. Diese werden wieder abgesprengt und durch neue ersetzt. So vermag eine kleine Menge von Antigen durch beständiges Weiterwirken eine sehr große Menge von Immunkörper zu beeinflussen. Der Organismus wird dabei zu einer fortwährenden Neubildung von Antikörpern angeregt.

Die im Sinne von Ehrlich im Ueberschuß gebildeten Zellrezeptoren werden nach diesem Autor in den Kreislauf abgestoßen und entsprechen den Pfeifferschen Antikörpern (Immunkörpern). Ehrlich & Morgenroth belegten diese spezifischen im Ueberschuß erzeugten Rezeptoren zuerst mit dem Namen „Zwischenkörper" auf Grund ihrer sogleich zu erörternden Vorstellung über ihre Wirkungsweise, später gaben sie ihnen den Namen „Ambozeptoren".

Dieselben Rezeptoren also, die, solange sie an dem Protoplasmamolekül sich befinden, zuleitend wirken, indem sie schädliche Bakterienstoffe an die Körperzelle binden, wirken, sobald sie nach Ueberproduktion ins Blut abgestoßen sind, ableitend, indem sie sich hier schon mit den giftigen Bakterienstoffen verbinden und damit die Zelle vor der schädigenden Einwirkung schützen (v. Behring) — die Verbindung Ambozeptor-Bakterienrezeptor ist nach Ehrlich & Morgenroth eine chemische.

Der Beweis, daß die Gruppe des Bakteriums, die sich mit dem Immunkörper verankert, auch dessen Produktion auslöst, glaubten zuerst von v. Dungern [522]

und SACHS[523] für die roten Blutkörperchen und in analoger Weise PFEIFFER[524] und PFEIFFER & FRIEDBERGER[525] für Bakterien durch die folgende Ueberlegung und entsprechende Versuchsanordnung erbringen zu können.

Man glaubte, daß, wenn die Anschauung EHRLICHS richtig wäre, Bakterien, deren sämtliche zur Bindung von Immunkörpern geeignete Gruppen besetzt waren („verstopfte Rezeptoren") bei der Injektion in den tierischen Organismus keine neue Antikörperbildung auslösen dürften, da die hierzu befähigten Gruppen des Bakteriums nicht an die passenden Zellgruppen herantreten konnten.

Das Experiment schien diese Erwartung zu bestätigen. Die Injektion von mit Choleraimmunkörpern reichlich beladenen Bakterien rief bei dem sehr empfänglichen Kaninchen fast keine Produktion von Antikörpern hervor *). Allerdings bedurfte es zur Erreichung dieses Effektes Mengen von Immunkörpern, die die Immunitätseinheit um das Vieltausendfache übertrafen.

Es ist aber die von den Autoren angenommene Deutung keineswegs zwingend.

Wir wissen, daß entsprechend den auf S. 317 ff. näher begründeten Anschauungen die Rolle des Immunserums nicht so sehr auf einer (physikalischen) Auflösung der Bakterienzelle und In-Freiheitsetzen des Antigens als vielmehr in dessen chemischem Abbau in relativ einfache Spaltprodukte beruht, die ihre antigene Funktion verloren haben.

Man kann nun sehr wohl sich vorstellen, daß bei einer übermäßig reichen Beladung der Antigene mit Antikörpern dieser Abbau so intensiv und so rapide erfolgt, daß die höheren Komplexe mit antigener Funktion nicht mehr in Wirkung treten können und daher die Antikörperbildung ausbleibt.

Die Ansicht EHRLICHS, daß die Gruppe des Antigens, die in vitro sich mit dem Antikörper verankert, auch in vivo die Bildung des Antikörpers auslöst, ist nach den Ergebnissen von FRIEDBERGER, FRIEDBERGER & MORESCHI[526] auf Grund eingehender Untersuchungen über den Rezeptorenapparat verschiedener Typhusrassen nicht absolut zwingend.

Diese Versuche ergaben, daß durch die wiederholte Vorbehandlung des Kaninchens, mit zwei Typhusrassen, Typhus „Gießen" und Typhus „Sprung", zwei Bakteriolysine erzeugt werden, die beide in „Gießen", von denen aber nur eins (das für Sprung) in „Sprung" passende bindende Gruppen findet, während das „Gießen"-Lysin von Sprung überhaupt nicht absorbiert wird.

Obwohl danach „Sprung" keine *bindenden* Gruppen für ein „Gießen"-Lysin hat, so *bildet* er doch im Kaninchenorganismus große Mengen eines Bakteriolysins für „Gießen".

Daraus aber ergibt sich, daß für die Bakteriolyse der Begriff des Rezeptors mit gleichzeitiger haptophorer und antigener Funktion aufgegeben werden kann, und daß man für die Bakteriolyse getrennte antikörperbildende und bindende Gruppen am Bakterium unterscheiden kann.

Analoge Resultate erhielten bald darauf BANG & FORSSMAN[527–530] in hämolytischen Versuchen, allerdings ist ihre Versuchsanordnung nach EHRLICH & SACHS[531] nicht einwandfrei gewesen. Auch erklärt SACHS[531] und in Uebereinstimmung mit ihm MEINECKE, JAFFÉ & FLEMMING die Verhältnisse in den Versuchen von FRIEDBERGER & MORESCHI, sowie BANG & FORSSMAN nicht durch eine Dualität bindender und bildender Gruppen, sondern durch Aviditätsdifferenzen, die seitens einer

*) Ein analoges Verhalten fanden NEISSER & LUBOWSKI[532] bei mit Agglutinin gesättigten Typhusbakterien im Gegensatz zu REHNS[533].

einheitlichen Gruppe im Tierkörper und in vitro andererseits hervortreten.

Die Ambozeptoren vermögen an und für sich nicht die Bakterien zur Auflösung zu bringen, sondern bedürfen hierzu, wie BORDET gezeigt hat, noch des Hinzutritts eines zweiten, im normalen Organismus vorhandenen Stoffes, der dem PFEIFFERschen aktivierenden Prinzip entspricht, das EHRLICH mit dem Namen Komplement belegt und das mit dem BUCHNERschen Alexin identisch ist.

Die Richtigkeit ihrer Auffassung bewiesen EHRLICH & MORGENROTH durch eine Reihe von Versuchen mit hämolytischen Seris.

Nachdem schon GRUBER & DURHAM [534], R. PFEIFFER [535], HAHN & TROMMSDORFF [536] gefunden hatten, daß der Ambozeptor von Bakterien verankert wird, untersuchten EHRLICH & MORGENROTH zunächst die Wirkung des Ambozeptors und sodann die des Komplements auf rote Blutkörperchen.

Das Serum einer mit Hammelblut vorbehandelten Ziege hatte die Eigenschaft, Hammelblutkörperchen mit großer Energie aufzulösen. Durch Erhitzen auf 60° inaktiviertes, d. h. seines Komplementes beraubtes Ziegenblut löste dagegen die Hammelblutkörperchen nicht, diese hatten aber den Ambozeptor absorbiert. Beweis:

Bei Zusatz von normalem (an sich unwirksamem) Kaninchenserum zu den abzentrifugierten Ziegenerythrocyten trat prompte Lösung ein.

Bei Zusatz von neuen Hammelblutkörperchen zur abzentrifugierten Flüssigkeit erfolgte auch bei Hinzufügen normalen Kaninchenserums keine Lösung. Also hatten die zuerst zugesetzten Blutkörperchen den Ambozeptor vollständig der Flüssigkeit entzogen.

Das Komplement wird nicht von den Blutkörperchen direkt gebunden. Beweis:

Bringt man Hammelblutkörperchen in normales, nicht lösendes Ziegenserum und zentrifugiert nach einiger Zeit die Blutkörperchen, so tritt bei Zusatz von neuen Hammelblutkörperchen und inaktiviertem spezifischen Immunserum zur Flüssigkeit Lösung ein. Das Komplement war also von den zuerst zugesetzten Blutkörperchen nicht verankert und noch im Abguß vorhanden.

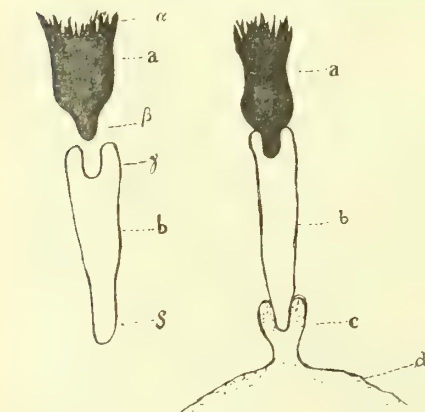


Fig. 3. Nach EHRLICH & MORGENROTH, Berl. klin. Wochenschr., 1900. a Komplement mit zymotoxischer (α) und haptophorer (β) Gruppe. b Ambozeptor mit komplementophiler (γ) und cytophiler (δ) Gruppe. c Bakterienrezeptor. d Teil eines Bakteriums.

Die Bindungsverhältnisse zwischen allen drei Elementen, Ambozeptoren, Zelle und Komplement, demonstrierten EHRLICH & MORGENROTH durch folgende Versuchsanordnung:

Ausgehend von der Beobachtung, daß Hämolyse nur bei höherer Temperatur stattfindet, ließen sie ein Gemisch von entsprechend abgekühlten Hammelblutkörperchen, inaktivem Serum von mit Hammelblutkörperchen vorbehandelten Ziegen (Ambozeptor) und normalem Kaninchenserum (Komplement) bei 0° mehrere Stunden stehen. Es trat keine Hämolyse ein; jedoch hatten die Erythrocyten den für sie passenden Ambozeptor verankert. Beweis:

Die abzentrifugierten Blutkörperchen wurden rapide aufgelöst bei Zusatz normalen (komplementhaltigen und an sich nicht lösenden) Kaninchenserums.

Die abzentrifugierte Flüssigkeit enthielt nichts mehr vom Ambozeptor aber noch das Komplement. Beweis:

Zugesetzte Hammelblutkörperchen wurden nicht gelöst, weil das Komplement sich nicht direkt mit ihnen verbinden kann, wohl aber Hammelerythrocyten, die mit inaktivem spezifischen Ziegenserum beladen waren.
Analoge Ausfällungsversuche lassen sich mit Bakterien und Immunserum anstellen.

NEUFELD & HAENDEL[537] fanden allerdings, daß das hämolytische Komplement auch schon bei 0⁰, nicht aber das bakteriolytische Komplement verankert wird. (Bei 37⁰ werden beide Komplemente gebunden.)

Der Antikörper besitzt also nach der Vorstellung EHRLICHS zwei bindende Gruppen, deren eine streng spezifische zum Bakterium, deren andere zum aktivierenden Prinzip Affinität besitzt; die erstere Gruppe bezeichnet er als „cytophile", die zweite als „komplementophile" Gruppe des Ambozeptors (Fig. 1).

Als analoges Beispiel für die Wirkungsweise der drei Komponenten Ambozeptor, Zelle und Komplement führen EHRLICH & MORGENROTH das Verhältnis des Diazobenzaldehyd zu Phenol- und Blausäure an. Die letzten beiden Stoffe bilden keine Verbindung. Bei Gegenwart des Diazobenzaldehyd aber tritt eine Verbindung der drei Körper ein. Letzteres spielt dabei dieselbe Rolle, wie der Ambozeptor, der ebenfalls die Vereinigung zweier Komponenten, die an sich nicht aufeinander reagieren (Zelle und Komplement), bewirkt.

Der Antikörper dient nach EHRLICH nur als Ueberträger des die Auflösung bedingenden aktivierenden Prinzips (Addiment oder Komplement). Eben deshalb hat er den Namen Ambozeptor erhalten*). Das Komplement erfährt durch den Immunisierungsprozeß keine Vermehrung und ist für den spezifischen Charakter des Immunserums ohne Bedeutung. Komplementgehalt eines Normal- und des entsprechenden Immunserums sind gleich; denn, wie BORDET zuerst gezeigt hat, braucht man zur Reaktivierung eines inaktivierten Immunserums von beiden die gleichen Quantitäten.

EHRLICH rechnet die Komplemente zu den proteolytischen Enzymen. „Da unter dem Einfluß des Addimentes Erscheinungen auftreten, die man mit PFEIFFER als der Verdauung analog ansehen muß, so werden wir nicht fehlgehen, wenn wir dem Addiment den Charakter eines Verdauungsfermentes vindizieren."

GRUBER[538] leugnet den Fermentcharakter des Komplements, weil es beim lytischen Prozeß verbraucht werde und nach Ablauf der Einwirkung eines aktiven Immunserums keine Produkte nachzuweisen sind, die einer proteolytischen Verdauung entsprechen. Auch die Veränderungen, die die Bakterien bei der Bakteriolyse erfahren, sollen keine äußerliche Aehnlichkeit mit Verdauungsvorgängen haben, vielmehr den Charakter von plasmolytischen-osmotischen Prozessen (wenn auch nicht im älteren Sinne BAUMGARTENS s. S. 384) tragen.

Auch LIEBERMANN[539] hält die Immunkörper und Komplemente nicht für Fermente, weil sie in wesentlichen Mengen verbraucht werden. Dagegen sprechen allerdings die Ergebnisse der Untersuchungen von PFEIFFER & FRIEDBERGER bezüglich der Ambozeptoren und die

*) Es existiert für die Namen „Ambozeptor" und „Komplement" eine Reihe von Synonymen, deren Bezeichnung sich aus der z. T. von EHRLICH abweichenden Auffassung der verschiedenen Autoren über ihre Wirkungsweise ergibt (s. unten), für Ambozeptor: Antikörper (R. PFEIFFER), Immunkörper (PFEIFFER EHRLICH & MORGENROTH), Zwischenkörper (EHRLICH & MORGENROTH), Copula (MÜLLER), Desmon (LONDON), Hilfskörper = Ambozeptor des Normalserums (BUCHNER), Präparator (GRUBER), Substance préventive (METSCHNIKOFF, BORDET), Substance sensibilisatrice (BORDET), Philocytase, Fixateur (METSCHNIKOFF), für Komplement: Addiment (EHRLICH & MORGENROTH), Alexin (BUCHNER, BORDET, GRUBER), Substance bactéricide (BORDET), Cytase (METSCHNIKOFF).

von Bail bezüglich der Komplemente. Pfeiffer & Friedberger [540] haben die Beobachtung gemacht, daß zunächst die Cholerabakterien in vitro außer stande sind, bei ihrem Lebensprozeß Choleraimmunkörper zu zerstören. Weiterhin aber wurde festgestellt, daß auch bei der Bakteriolyse im Peritoneum des Meerschweinchens nachweisbare Mengen von Antikörpern, auch wenn sie vor der Bakteriolyse an die Bakterienrezeptoren verankert waren, nicht zerstört werden, sondern bei der durch das Komplement verursachten Auflösung wieder frei und aktionsfähig werden.

Wir haben hier also ein Verhalten entsprechend dem bei den Fermenten, d. h. keinen Verbrauch bei dem biologischen Prozeß*).

Bail & Tsuda [541] konnten die Versuche von Pfeiffer & Friedberger über das Freiwerden der Ambozeptoren aus beladenen Bakterien bei Bakteriolyse bestätigen. Sie fanden, daß auch Normalambozeptoren (Rinderserum) das gleiche Verhalten ergaben. Auch bei Verwendung von mit Choleraextrakten und Immunserum hergestellten Präzipitaten wurden in der Bauchhöhle des Meerschweinchens Vibriolysine abgegeben.

Bail [542] versetzte Normalserum mit Cholerabakterien, zentrifugierte nach einiger Zeit ab und fand das Komplement scheinbar verschwunden. (Beweis: Zusatz frischer Bakterien ergab keine Bakteriolyse mehr.) Bei Zusatz von beladenen Bakterien ergab es sich jedoch, daß gleichwohl das Komplement noch vorhanden war, denn es trat nunmehr wieder Bakteriolyse ein. Es ist das meines Erachtens kein sicherer Beweis für das Persistieren des Komplementes. Es dürften geringe Mengen von Komplement übrig geblieben sein, die nun gegenüber beladenen Bakterien leicht ihre Wirkung entfalten konnten. Wissen wir doch aus den Untersuchungen von Sachs & Morgenroth [543] u. a., daß um so kleinere Mengen von Komplement zur Lösung ausreichen, je stärker das Antigen mit Ambozeptor beladen ist.

Es ist aus dem vorher Gesagten klar, daß der Antikörper, der beim Immunisierungsprozeß allein in großen Mengen produziert wird, derjenige Anteil ist, dem eine strenge Spezifizität zukommt, d. h. eine Spezifizität im wesentlichen nicht so sehr für eine bestimmte Zellenart, als für Protoplasmamoleküle, die die betreffenden, seine Produktion auslösenden Rezeptoren besitzen. Das Komplement seinerseits hat, wie aus Untersuchungen von Ehrlich, Morgenroth u. a. hervorgeht, auf die hier einzugehen zu weit führen würde, ähnlich den Toxinen zwei Gruppen: eine haptophore, die in die zweite haptophore Gruppe des Ambozeptors paßt, und eine zweite Gruppe, die die Trägerin der auflösenden Funktionen ist, die zymotoxische Gruppe. Letztere ist sehr labil zusammengesetzt, worauf die Inaktivierung und der schnelle Verlust der Wirksamkeit bakteriolytischer Sera außerhalb des Tierkörpers beruht.

---

*) Kruse (Allgem. Mikrobiolog., Bd. 1, S. 1056) sieht einen Widerspruch darin, daß die Antikörper bei der Bakteriolyse wieder frei werden, während andererseits völlig beladene Bakterien nicht immunisieren.

Nach dem was S. 354/55 zur Erklärung des letzteren Phänomens gesagt worden ist, ist dieser Widerspruch natürlich nur ein scheinbarer.

Wir müssen annehmen, daß — bis die Antikörper wieder frei werden — das Antigen bereits völlig über die die Antikörperbildung auslösende Stufe hinaus abgebaut ist. Wir haben also hier eine völlige Analogie mit der Fermentwirkung, bei der jedoch das Ferment intakt bleibt, während das Substrat der Enzymwirkung verloren geht.

Die haptophore Gruppe des Komplementrestes (den man als Komplementoid bezeichnet) besitzt nach EHRLICH & MORGENROTH i. R. eine geringere Affinität zur haptophoren Gruppe des Ambozeptors als das intakte Komplement, sonst wäre eine Reaktivierung des inaktivierten Serums undenkbar. Unter gewissen Umständen, die jedoch seither nur bei der Hämolyse beobachtet sind, kann das Komplementoid sich auch anders verhalten, wie EHRLICH & SACHS[544] bei der Kombination inaktiviertes Hundeserum + Meerschweinchenblut + normales Meerschweinchenserum bewiesen haben.

Bei gleichzeitiger Mischung aller drei Bestandteile tritt Hämolyse ein. Wird aber aktivierendes Meerschweinchenserum erst nach Mischung der beiden anderen Komponenten zugesetzt, so bleibt die Auflösung aus, weil in diesem Fall bei Hinzufügen des Komplementes (normales Meerschweinchenserum) die komplementophile Gruppe des Ambozeptors schon durch das Komplementoïd des inaktivierten Hundeserums besetzt war. EHRLICH & SACHS bezeichnen diesen Vorgang als „Verstopfung" des Ambozeptors.

Durch die Untersuchungen von FERRATA[545], BRAND[546], HECKER[547], SACHS & ALTMANN[548], LIEFMANN[549] und andere wurde zunächst eine weitere Komplexität im Bau des Komplementes festgestellt; durch geeignete Maßnahmen (Dialyse [FERRATA], Salzsäurebehandlung [SACHS], Ausfällen mit Kohlensäure [LIEFMANN], Näheres siehe das Kapitel „Hämolysine"), läßt sich das Komplement in zwei Bestandteile trennen, ein „Mittelstück", das in der Globulinfraktion sich findet und ein „Endstück", das in den Abguß übergeht. Das Mittelstück verbindet sich mit dem Ambozeptor und an dieses seinerseits gliedert sich das Endstück an. Entgegen der ursprünglichen Annahme von LIEFMANN & STUTZER[550], wonach die ganze bakterizide Komplementwirkung nur dem hämolytischen Endstück zukommt, konnte BRAUN[551] den Nachweis erbringen, daß nicht nur das hämolytische Komplement, sondern auch das bakteriolytische Komplement sich in diese beiden Komponenten zerlegen läßt, deren gemeinsame Wirkung auch für die Bakteriolyse erforderlich ist (von LIEFMANN[552] neuerdings anerkannt). Nur insofern besteht ein geringfügiger Unterschied, als die Wirkung des in Kochsalzlösung aufbewahrten Mittelstücks (BRANDsche Modifikation) nach Zutritt des Endstückes bei der Bakteriolyse im Gegensatz zur Hämolyse nicht wieder in Erscheinung tritt.

Die Verbindung Ambozeptor—Zelle ist nach Untersuchungen MORGENROTHS[553] an Blutkörperchen eine sehr feste, da die mit Ambozeptor gesättigten Erythrocyten keine nachweisbaren Mengen von Zwischenkörper an die Suspensionsflüssigkeit abgeben. Setzt man aber nicht beladene rote Blutkörperchen der gleichen Species zu, so springen dennoch geringe Mengen des Ambozeptors über, was daraus hervorgeht, daß bei späterem Zusatz von Komplement komplette Lösung erfolgt. Hat jedoch der Ambozeptor, der an die Erythrocyten verankert ist, auch gleichzeitig Komplement absorbiert, so wird die Verbindung Ambozeptor—Zelle eine festere, so daß kein Abspringen von Ambozeptoren mehr möglich ist. Beweis: Wenn das Komplement gleichzeitig mit den unbeladenen Erythrocyten zugesetzt wird, so erfolgt keine komplette Lösung.

PFEIFFER & FRIEDBERGER[540] kamen auf Grund ihrer Versuche zu der Annahme, daß auch bei Bakterien eine ziemlich feste Bindung zwischen Ambozeptor und Bakterien statt hat, dagegen fand BAIL & TSUDA[554], sowie SPÄTH[555], daß der an Choleravibrionen gebundene lytische Antikörper wieder abgesprengt wird, besonders leicht bei der Beladung mit inaktivem Serum. BAIL & AXAMIT[556] fanden, daß zu einer Mischung von Bakterienextrakt und Ambozeptor zugesetzte Vollbakterien (Cholera) die Ambozeptoren an sich ziehen. Daraus folgern sie, daß der Vibrionenextrakt an sich keinen Immunkörper verankert, also keine „freien Rezeptoren" enthält. Der Extrakt ist andererseits imstande, Immunkörper zu bilden. (Es würde das wieder für eine Verschiedenheit der bildenden und bindenden Gruppen in unserem Sinne sprechen.)

KINDBORG[557] fand, daß Zusatz von Fibrin zum Immunserum die Ambozeptorwirkung aufhebt. Es handelt sich dabei vielleicht um eine Absorption des Ambozeptors durch das Fibrin. Die von BAIL & PETTERSON[558] für ambozeptoraufhebende Wirkung von Organextrakten angenommene Theorie, wonach ein komplementartiger Bestandteil aus dem Organextrakt die komplementophile Gruppe des Ambozeptors verstopfen soll, trifft zur Erklärung deshalb nicht zu, weil auch gekochtes Fibrin die gleichen Eigenschaften wie rohes entfaltet.

Die Affinität der Gewebsrezeptoren zu den eingeführten Bakterien kann im Verlauf der Immunisierung die verschiedensten Aenderungen erfahren. So erklärt EHRLICH die Beobachtungen von KOSSEL[559], CAMUS & GLEY[560], TCHISTOVITSCH[561], daß die Kaninchenerythrocyten während der Immunisierung der Tiere mit Aalserum unempfindlich werden, durch einen „Rezeptorenschwund" bei diesen Zellen. Als Ursache desselben nimmt EHRLICH eine Inaktivitätsatrophie an, indem für die betreffenden Rezeptoren passende Stoffwechselprodukte durch das Antitoxin, das ja die gleiche haptophore Gruppe besitzen muß, wie diese, von den Zellrezeptoren ferngehalten werden. Dadurch werden diese außer Aktion gesetzt und atrophieren.

Andererseits soll die Affinität der Gewebsrezeptoren unter der Immunisierung eine Erhöhung erfahren können, wie sich auch Versuchen v. DUNGERNS mit Majaplasma-Immunisierung und den analogen Versuchen von COLE-WASSERMANN[392] bei Immunisierung gegen Typhus ergibt.

v. DUNGERN sah, daß injiziertes Majaplasma bei einem bereits vor längerer Zeit vorbehandelten Kaninchen viel schneller aus der Blutbahn verschwindet, als bei einem Normaltier, weil eben im ersten Fall die Affinität der Gewebereze-ptoren durch die voraufgehende Behandlung gesteigert ist. Auf ebendieselbe Ursache führen COLE & WASSERMANN die von ihnen gefundene Tatsache zurück, daß man bei einem bereits einmal vorbehandelten Tiere noch mit Bakterienmengen, die unter der bei normalen Tieren Ambozeptorenbildung auslösenden Dosis liegen, Immunkörperproduktion erzielen kann.

Auf eine erhöhte Affinität der Zellrezeptoren wurde es zurückgeführt, daß hochgradig immunisierte Tiere zuweilen gegenüber der Infektion mit der gleichen Bakterienspecies besonders empfindlich sind.

Es ist dieses nach WASSERMANN dadurch zu erklären, „daß die Affinität der Gewebsrezeptoren zu den einzelnen Bakterien krankhaft gesteigert ist, so daß sie die Affinität der im Blute frei kreisenden Rezeptoren übersteigt". Es kann daher gerade ein derartig hoch immunisiertes Tier dennoch leicht einer Injektion erliegen. (KRETZsches Phänomen); Näheres siehe bei Anaphylaxie.

BORDET[562, 563], der gleichfalls das Vorhandensein eines spezifischen Immunkörpers annimmt, faßt jedoch dessen Wirkungsweise in einem von EHRLICH verschiedenen Sinne auf. Nach ihm hat der Ambozeptor die Funktion, eine spezifische Schädigung der Bakterien zu veranlassen und sie damit für die Wirkung des von ihm als einheitlich aufgefaßten Alexins (Komplements) zugänglich zu machen.

Er vergleicht die Wirkung des Ambozeptors in Weiterführung des vón FISCHER aufgestellten Bildes von Schlüssel und Schloß mit der Rolle des Sicherheitsschlüssels in einem Sicherheitsschlosse, nach dessen Einführung erst der eigentliche Schlüssel (das Alexin) in Aktion treten kann, oder er vindiziert auch dem Ambozeptor eine ähnliche Rolle wie sie der Beize in der Färbetechnik zukommt.

Der Ambozeptor hat nach seiner Ausdrucksweise die Funktion, das Bakterium für die Wirkung des Komplements zu sensibilisieren.

Wegen dieser dem Ambozeptor vindizierten Tätigkeit nennt BORDET ihn „substance sensibilisatrice".

Auch NOLFF vergleicht auf Grund gleicher Anschauungen die Rolle des Ambozeptors mit der der Beize in der Färbung*); der Antikörper erhöht nach ihm nur den Absorptionskoëffizient für das Alexin.

BUCHNER[566] hat eine der BORDETschen ähnliche Auffassung über die Wirkungsweise der beiden Komponenten des Bakteriolysins. Der Antikörper soll nur die Funktion haben, daß Bakterium für die bakterizide Wirkung des Alexins zu prädisponieren.

Auch GRUBER[567] der sich der BORDETschen Auffassung anschließt, führt aus dem Gebiete der hämolytischen Sera eine Reihe von Ver-

*) EHRLICH[565] weist allerdings darauf hin, daß der Vergleich mit der Beize ein verfehlter ist, indem gerade die Beizenfärbung nach dem Ambozeptorentypus verläuft.

suchen an, denen zufolge der Antikörper und das Alexin gar nicht im Ehrlichschen Sinne aufeinander reagieren, sondern der Ambozeptor eine Rolle bei der Bakteriolyse spielt, wie sie der Bordetschen Auffassung entspricht; er wählt daher für Ambozeptor die Bezeichnung „Präparator".

Er hält infolge seiner Anschauung das Vorkommen der fertigen Verbindung Ambozeptor und Komplement für unmöglich, da sonst bei der Mischung aller Komponenten in der Kälte im hämolytischen Versuch von Ehrlich nach Einbringung der Probe in höhere Temperatur Lösung eintreten müsse.

Die spezifisch bakteriolytische Wirkung beruht nach ihm darauf, „daß die betreffenden Zellen zunächst den Antikörper aufnehmen und dadurch dem Alexin zugänglicher werden, das von ihnen irgendwie aufgenommen und gebunden wird und die Zersetzung ihres Plasmas einleitet".

Die Frage, ob tatsächlich der Ambozeptor im Sinne von Gruber als Präparator fungiert oder ob die Anschauung Pfeiffers richtig ist, zu der sich auch Ehrlich bekannt hat, daß das spezifische Immunserum an sich die Bakterien in keiner Weise alteriert, hat Friedberger[568] experimentell zu entscheiden gesucht.

War die Pfeiffer-Ehrlichsche Anschauung richtig, so dürfte ein Bakterium, das sich mit spezifischem Ambozeptor beladen hatte, gegenüber Schädigung chemischer oder physikalischer Natur sich nicht anders verhalten wie ein ambozeptorfreies. Anders ist es nach der Auffassung Baumgartens, Grubers und auch Bordets. Nach ihnen bedeutet die Verankerung des Ambozeptors an das Bakterium bereits eine Schädigung seiner vitalen Energie und es war zu erwarten, daß danach mit Ambozeptor beladene Bakterien gegenüber chemisch und physikalisch schädigenden Einflüssen weniger resistent sich erwiesen im Vergleich zu normalen.

Friedberger hat gleiche Mengen normaler und mit inaktiviertem Immunserum beladener Cholerabakterien der Einwirkung des Sublimats, hoher Temperatur, und außerdem entsprechend behandelte Blutkörperchen, verschiedenprozentiger Kochsalzlösung unter sonst absolut gleichen Bedingungen ausgesetzt.

Die Sublimatversuche sollten als Prototyp für den Einfluß einer rein chemischen Schädigung, die Versuche mit erhöhter Temperatur als solche einer rein physikalischen, die Kochsalzversuche endlich als Prototyp einer osmotischen Schädigung dienen.

Es zeigte sich keine Differenz zwischen den mit Immunserum behandelten und den anderen Bakterien bzw. Erythrocyten bezüglich der Einwirkung hypertonischer und hypotonischer Salzlösungen.

Die Versuche, die von Rössle[569] sowie Leuchs[570] bestätigt wurden, dürften dazu geeignet sein, die Anschauung von der Schädigung eines Bakteriums bzw. einer Zeille durch die bloße Verankerung eines spezifischen Ambozeptors zu widerlegen.

Gegen die Bordet-Grubersche Auffassung führt Ehrlich eine Reihe von Argumenten an; da es sich hier nur um Hämolyseversuche handelt, so muß auf das betr. Kapitel verwiesen werden.

Die bakteriolytisch wirksamen Stoffe der Normalsera besitzen die gleiche Konstitution wie die der Immunsera.

R. Pfeiffer hat bereits im Jahre 1895 darauf hingewiesen, daß die bakteriolytischen Normalsera höchstwahrscheinlich genau dieselbe Konstitution besitzen, wie die Immunsera.

Er zeigte, daß Normalserum genau wie Immunserum durch Erhitzen auf 56° seine bakterienvernichtende Eigenschaft im Reagenzglase verloren hatte, während es im Tierkörper noch ebenso wie Immunserum aktivierbar war.

Moxter[571] hat alsdann auch durch Reaktivierungsversuche in vitro den Beweis für das Vorhandensein bakteriolytischer Ambozeptoren im Normalserum erbracht.

Normales auf 56° erhitztes Meerschweinchenserum ist unfähig, Choleravibrionen aufzulösen, wird aber durch Zusatz von frischem Peritonealexsudat desselben Tieres wieder aktiviert.

Weiteres Material zum Beweis der komplexen Natur der Bakteriolysine des Normalserums liefert Wechsberg[572].

Eine Bestätigung für die Identität der Ambozeptoren des Normalserums und des Immunserums glaubten Pfeiffer & Friedberger[573] dadurch zu erbringen, daß es ihnen mit Antikörpern gegen die bakteriolytischen Immunkörper des Choleraziegenserums gelang, sowohl die bakteriolytische Wirkung des Normalziegenserums wie die des Serums spezifisch immunisierter Tiere zu paralysieren*).

Demgemäß vermochten sie auch durch Verimpfung normalen Ziegenserums (entsprechend dessen Gehalt an homologen Ambozeptoren) ein antiambozeptorhaltiges Serum zu erlangen, das sowohl die Ambozeptoren des normalen wie des spezifischen Ziegenserums paralysierte.

Ehrlich & Morgenroth, Sachs[575], P. Th. Müller[576], E. S. London[577], E. Neisser & Döring[578], Meltzer[579] erbrachten eine große Reihe anderer beweiskräftiger Experimente für die komplexe Natur des Lysins aus dem Gebiete der hämolytischen Sera, H. Strauss & Wolff[580] für hämolytische Trans- und Exsudate. So können wir heute annehmen, daß auch im Normalserum die keimvernichtende Wirkung auf der Tätigkeit eines komplex zusammengesetzten Lysins beruht und nicht nur auf der Wirkung des einheitlichen Alexins.

Den Beweis einer völligen Analogie des Zusammenwirkens der einzelnen Komponenten bei der lytischen Wirkung von normalem und Immunserum erbrachten Ehrlich & Morgenroth durch eine der S. 356 geschilderten entsprechende Versuchsanordnung unter Verwendung von hämolytischem Normalserum an Stelle von Immunserum.

Die Bindung Ambozeptor-Blutkörperchen geht allerdings in der Kälte bei Normalseris nicht so glatt vor sich wie bei Immunseris, infolgedessen ist der Nachweis des reinen Komplements erschwert. Er läßt sich aber doch erbringen bei Verwendung von komplementhaltigen Seris, die nicht zugleich einen Ambozeptor für die betreffenden Erythrocyten besitzen (z. B. Hundeblutambozeptor + Meerschweinchenserum [mit passendem Komplement ohne Ambozeptor] + Meerschweinchenerythrocyten.)

Der Nachweis bakteriolytischer Ambozeptoren im Normalserum ist nicht immer leicht, besonders nicht in vitro, da hier die Verankerung von Ambozeptoren und Komplementen nicht stets von einer Bakteriolyse gefolgt ist.

Bordet & Gengou[581] glaubten durch eine besondere Versuchsanordnung, die später für andere Zwecke von großer Bedeutung geworden ist (Wassermann), den Beweis für das Vorhandensein von Zwischenkörpern im Normalserum erbringen zu können.

---

*) Zu analogen Resultaten kam Ford[574] bezüglich der Hämagglutinine (vgl. jedoch die Einwendungen gegen die Deutung der Antikomplementversuche) (s. unten).

Das auf Gehalt von Ambozeptoren zu prüfende Serum wird auf 55° erhitzt und mit komplementhaltigem Normalserum und Bakterien vermischt. Sind Zwischenkörper im erhitzten Serum vorhanden, so werden diese von den Bakterien verankert, während sie selbst das gesamte Komplement des zugefügten Normalserums absorbieren. In diesem Fall kann die abzentrifugierte Flüssigkeit nicht mehr auf zugefügte „sensibilisierte" Erythrocyten, die vom betreffenden Normalserum sonst gelöst werden, hämolytische Wirkung (wegen Komplementmangels) entfalten. Ist jedoch kein für die Bakterien passender Ambozeptor vorhanden, so wird auch das Komplement nicht verankert und es kann nachher Hämolyse erfolgen.

Der negative Ausfall des Versuches, d. h. der Eintritt der Hämolyse bei einer bestimmten Versuchsanordnung beweist jedoch nach Ehrlichs plurimistischer Anschauung keineswegs das Fehlen von Ambozeptoren im Normalserum überhaupt, sondern nur das Fehlen eines für das betreffende zugesetzte Komplement passenden Ambozeptors. Wenn man eine Reihe komplementhaltiger Sera durchprobieren würde, würde in den Fällen, in denen scheinbar im inaktivierten Serum kein Ambozeptor zu finden ist, sich die Gegenwart eines derartigen Körpers nachweisen lassen.

Die Gegenwart von hitzebeständigen Stoffen im normalen Serum erkennt auch Buchner[582–584] an. Er bestreitet aber ihre Spezifizität und ihre unbedingte Notwendigkeit für die Bakteriolyse. Er stellt sie in Gegensatz zu den „Immunkörpern" des spezifischen Serums und sieht in ihnen nur die Wirkung der Alexine begünstigenden Stoffe, weshalb er für sie den Namen „Hilfskörper" vorgeschlagen hat.

Auch Gruber ist der Ansicht, daß keineswegs bei dem Normalserum stets die Wirkung des Alexins an das Vorhandensein eines „Präparators" geknüpft ist. Er führt für diese Behauptung eine Reihe von Kombinationen aus dem Gebiete der Hämolyse an und nimmt auch an, daß die Bakteriolyse abgeschwächter Bakterienrassen allein durch das Alexin erfolgt.

Die Beweiskraft seiner hämolytischen Versuche wurde von Sachs bestritten und bezüglich der bakteriolytischen Versuche ist von Pfeiffer & Friedberger[585] gefunden worden, daß auch avirulente Bakterien Ambozeptoren verankern, nur häufig entsprechend ihrem geringen Virulenzgrade bedeutend weniger als virulente.

Ferner behauptet Gruber, daß der hämolytische „Präparator" eines Normal- und Immunserums verschieden voneinander sind. Der „Präparator" des Normalsera soll nicht die Erythrocyten einer anderen Species für ihr eigenes Serum empfindlich machen, während der des Immunserums dieses regelmäßig tut. Auch hier haben Ehrlich und seine Schüler Kombinationen gefunden, aus denen sich keineswegs die allgemeine Gültigkeit der Gruberschen Behauptung ergibt.

Shibayama[586] fand, daß bei der Dialyse gegen Wasser normales Hämolysin leichter seine Wirksamkeit einbüßt, als Immunhämolysin.

Landsteiner[587] fand analoge Unterschiede in der Hitzebeständigkeit von Normal- und Immunhämolysinen. Es kann jedoch diese Differenz durch quantitative Verhältnisse erklärt werden und spricht keineswegs für eine qualitative Differenz der einschlägigen Stoffe von Normal- und Immunseris (siehe jedoch auch S. 298).

Metschnikoff und seine Schule vertrat gleichfalls die Meinung, daß bei der Bakterizidie der Normalsera der Zwischenkörper nur eine untergeordnete Rolle spielt.

Es sei an dieser Stelle noch eine interessante Hypothese von P. Th. Müller[588] erwähnt, die die natürliche Immunität nur als eine besondere Form der erworbenen auffaßt, in dem Sinne, daß die Schutzkräfte, deren sich der Organismus beim Eintritt einer Infektion bedient, nicht vorgebildet sind, sondern erst im Moment der Infektion entstehen. Die an irgendeiner Körperstelle eindringenden Bakterien rufen eine unmittelbare lokale Antikörperbildung hervor („Schnellimmunisierung"), die unter günstigen Umständen genügt, die eingedrungenen Bakterien zu vernichten, eine Tatsache, die alsdann als natürliche Immunität in Erscheinung tritt. Die Tatsache, daß durch Absorptionsversuche in vitro das Vorhandensein bakteriolytischer Immunkörper im Normalserum

nachgewiesen ist, gegenüber Bakterienarten, mit denen eine voraufgegangene, nicht bekannt gewordene Infektion sicher auszuschließen ist (Choleraambozeptoren im normalen Ziegenserum) (Pfeiffer & Friedberger[589]), spricht gegen die Müllersche Auffassung.

Diese Hypothese schließt sich an die von Denys & Kaisin[590], sowie Kruse[591] an, die gleichfalls die Bildung bakterizider Substanzen erst im Moment der Infektion annahmen. Sie faßten diese jedoch nicht als spezifische Reaktionsprodukte des Organismus auf den Reiz der Infektion auf, sondern vermuteten eine vermehrte Produktion der normal vorhandenen Alexine.

In der weiteren Fortführung der Immunitätsforschungen ergab sich nun eine große Kompliziertheit, sowohl in dem Bau der Ambozeptoren wie der Komplemente und auch der die Reaktionen auslösenden Bakterien.

Verschiedenheit der Ambozeptoren der verschiedenen Tierspecies.

Bereits Behring & Nissen[591a] beobachteten eine Differenz in den bakteriziden Stoffen verschiedener Tierspecies; so sind z. B. die bakteriziden Körper des normalen Rattenserums gegenüber Milzbrand verschieden von denen des mit Vibrio Metschnikoff immunisierten Meerschweinchens gegenüber diesem Mikroorganismus. Rattenserum wirkt nicht auf Vibrio Metschnikoff und Meerschweinchen-Vibrio-Metschnikoff-Serum nicht auf Milzbrand.

Weitere Beweise für die Verschiedenheit der Ambozeptoren der verschiedenen Tierspecies hat dann R. Pfeiffer in seiner Arbeit über „ein Grundgesetz der Immunität" beigebracht. Die Folgerungen seiner Versuche wurden von Metschnikoff bestritten. Jedoch glaubten Pfeiffer & Friedberger[593] einen weiteren Beweis für die Verschiedenheit der Ambozeptoren der verschiedenen Tierspecies durch immunisatorisch erzeugte Hemmungswirkungen, die sie als Antikörper gegen die bakteriolytischen Immunkörper der Cholera deuteten, erbracht zu haben.

Es seien im Nachstehenden diese Versuche kurz besprochen, wenn wir auch heute vielleicht die vermeintliche Antiambozeptorwirkung im wesentlichen als einfache hemmende Eiweiß-Antieiweißwirkung aufzufassen haben. Mit Hilfe derartiger Stoffe, die durch Vorbehandlung von Kaninchen mit Choleraziegenserum gewonnen worden waren, gelang es nur, die Wirkung der Ziegenambozeptoren, nicht aber die der Kaninchenambozeptoren aufzuheben. Da der Antiimmunkörper, wie später gezeigt wird, nur auf die cytophile Gruppe wirkt, so sollten diese Versuche zunächst nur eine Verschiedenheit der cytophilen Gruppen der Ambozeptoren bei verschiedenen Tierspecies beweisen; daß aber auch die Ambozeptoren in ihren komplementophilen Gruppen verschieden sind, ergibt sich aus folgenden Beobachtungen Wechsbergs[593a].

Metschnikoff-Kaninchen-Immunserum schützt Tauben nicht vor der Infektion mit Vibrio Metschnikoff, Taubenimmunserum dagegen wohl. Es liegt das daran, daß im letzteren Falle die Tiere ein passendes Komplement zu liefern imstande sind, das in die komplementophile Gruppe des Taubenambozeptors, nicht aber in die des Kaninchenambozeptors paßt.

Die Verschiedenheit der komplementophilen Ambozeptorgruppe bedingt analoge Verhältnisse für die haptophore Gruppe des Komple-

ments. Hierfür werden Beispiele im Abschnitt „Vielheit der Komplemente“ S. 367) angegeben.

Besredka[594] ist der Ansicht, daß der Ambozeptor für eine bestimmte Bakterienart stets der gleiche ist, einerlei, von welcher vorbehandelten Tierspecies das Serum stammt.

Auch Gruber schließt sich der Auffassung an, die ihn auch dazu führt, in Uebereinstimmung mit Buchner anzunehmen, daß die Antikörper in genetischem Zusammenhang mit den Substanzen stehen, deren Antagonisten sie sind.

Vielheit der Immunkörper des normalen und des Immunserums bei einer Tierspecies.

Der Nachweis der Pluralität der Immunkörper wird mittels der von Ehrlich & Morgenroth für die hämolytischen Ambozeptoren ausgearbeiteten Methode der elektiven Absorption erbracht.

Diese Methode besteht darin, daß in einem inaktivierten, d. h. auf 56° erhitzten Serum, das mehrere Arten von Immunkörpern enthält, eine bestimmte zugesetzte Bakterien- oder Blutkörperchenart nur die für sie passenden Immunkörper absorbiert. Die abzentrifugierte Flüssigkeit muß noch die auf andere Zell- resp. Bakterienrezeptoren eingestellten Immunkörper enthalten.

Auf Grund dieser Ehrlichschen Absorptionsmethode konnten dann R. Pfeiffer & Friedberger zeigen, daß schon das normale Ziegenserum eine große Reihe verschiedener Arten von Ambozeptoren besitzt. Es gelang ihnen nämlich, durch Ausfällung mit den verschiedensten Bakterienarten dem Serum immer nur die für die betreffende Bakterienart passenden Ambozeptoren zu entziehen *).

Hierbei ergaben sich allerdings gewisse Uebergänge, die sich wohl durch Verwandtschaft der betreffenden Mikroorganismenarten im System erklären lassen, indem in einem Falle durch die Ausfällung durch Vibrio Finkler auch die Wirksamkeit des Serums für Cholera zum großen Teil verloren gegangen war. Bei anderen Vibrionenarten wurde allerdings ein derartiges Uebergreifen nicht beobachtet. Man hat sich die Erscheinung im ersteren Falle vielleicht so vorzustellen, daß gewisse, die Antikörper resorbierende resp. deren Bildung auslösende Gruppen des Bakteriums bei nahe verwandten Species identisch sind.

Es sei hier auf die Verhältnisse der Agglutinine von Typhus- im Vergleich zu Coli- und Paracoliserum verwiesen. Die Spezifizität in weiterem Sinne betrachtet, würde sich danach nicht gegen die Bakterienspecies als solche, sondern die (bei den einzelnen Arten allerdings wohl meist verschiedenen) Rezeptoren richten, Verhältnisse, auf die Ehrlich zuerst bei den Cytolysinen hingewiesen hat.

Neisser[598] konnte die Verschiedenheit der bakteriziden von den hämolytischen Immunkörpern des normalen Serums gleichfalls durch Ausfällungsversuche demonstrieren. Die Ausfällung durch Milzbrandbacillen beraubte das Serum nicht seiner hämolytischen Fähigkeit; und umgekehrt.

Der Unterschied zwischen einem Normalserum und dem entsprechenden Immunserum besteht nach unseren heutigen Anschauungen darin, daß einer der zahlreichen im Normalserum vorhandenen Immunkörper, nämlich der, welcher zu den zur Erzeugung der Immunität verwendeten Bakterien eine spezifische Affinität besitzt, eine elektive kolossale Vermehrung erfahren hat. Auf diese Weise wirkt das betreffende Serum in starker Verdünnung streng spezifisch.

---

*) Bordet[595], Malkoff[596], Landsteiner & Sturli[597] haben analoge Versuche mit Agglutinin angestellt. Bordet, Landsteiner & Sturli sträuben sich gegen die Annahme, daß im normalen Serum so viele spezifisch differente Gruppen vorhanden seien; sie glauben vielmehr, daß die Spezifizität nur durch eine Beeinflussung des Serums durch die verschiedenartigen zugesetzten Elemente und durch Aviditätsdifferenzen vorgetäuscht werde.

Gruber[599] sowie Morgenroth & Sachs[600] haben allerdings in Immunseris Ambozeptoren gefunden, die vorher im Normalserum nicht nachweisbar gewesen waren. Es handelt sich in diesen Fällen nach der Annahme von Morgenroth & Sachs um Körper, die zwar beim nicht vorbehandelten Tier auch vorhanden waren, aber hier nicht in das Serum gelangten, sondern als „sessile" Rezeptoren nur an Zellen gebunden vorkamen, und erst durch den Immunisierungsprozeß abgestoßen wurden.

Wenn somit schon eine Vielheit der Ambozeptoren im Normalserum vorhanden ist, so ist schon hieraus ihre Pluralität im spezifischen Immunserum ohne weiteres verständlich.

Ehrlich & Morgenroth und andere haben für ein und dasselbe hämolytische Serum eine große Anzahl Ambozeptoren, verschieden sowohl in ihren komplementophilen wie cytophilen Gruppen nachgewiesen. Die Verschiedenheit bezüglich der ersteren ergibt sich, sowohl für hämolytische, wie bakteriolytische Sera aus der Verschiedenheit der Komplemente.

Die Pluralität der Ambozeptoren bezüglich der cytophilen Gruppe ist für die hämolytischen Sera durch den Nachweis von Isolysinen und ihre wechselnde Wirkung gegenüber den Blutkörperchen verschiedener Individuen derselben Species bewiesen. Diese erklärt sich aus einer Vielheit und wechselnden Gestaltung des Rezeptorenapparates der injizierten Erythrocyten und entsprechend wechselnden Verhältnissen in den Zellrezeptoren der einzelnen vorbehandelten Individuen.

Auch die bei gewissen Bakterienarten als sicher zu erachtende Verschiedenheit der Rezeptoren der einzelnen Individuen und Rassen bedingt die Annahme einer Reihe von Partialambozeptoren im Immunserum. Wenigstens deutet Wechsberg[593a] in diesem Sinne Beobachtungen, die er an Tauben anstellte.

Die Tiere besaßen für ein gegen Vibrio Metschnikoff gerichtetes wirksames Kaninchenimmunserum, wie bereits erwähnt, kein Komplement und erlagen daher trotz der passiven Immunisierung mit diesem Serum der Infektion mit Vibrio Metschnikoff.

Wenn aber die Tauben sehr große Dosen des Kaninchenimmunserums erhielten, so schützte dieses auch ohne passive Zufuhr eines geeigneten Komplementes. Wechsberg erklärt diese Erscheinung unter der Annahme eines zweiten, in geringen Mengen im Immunserum vorhandenen, also auch bei Verwendung größerer Dosen zur Geltung kommenden „Partialambozeptors", der im Gegensatz zu der großen Menge der übrigen Ambozeptoren eine für ein Komplement des Taubenserums passende komplementophile Gruppe besitzt.

Die wirksame Funktion des Normalserums. (Das Komplement.)

Es ist schon vorne bei Besprechung der normalen bakteriziden Substanzen auf die Frage der Herkunft aus den Leukocyten hingewiesen worden.

Später hat man sie als die Quelle des Komplementes angesehen; auch das ist unzutreffend.

Daß die bakteriziden Leukocytenstoffe, die von Petterson[163, 164], King[165], Weil, Levaditi u. a. gewonnen wurden, mit den Komplementen nicht identisch sind, ergibt sich aus der einfachen Betrachtung ihrer oben aufgeführten Eigenschaften.

Daß aber auch nicht daneben noch Komplemente von den Leukocyten sezerniert werden oder in ihnen enthalten sind, ergibt sich aus einer Reihe von Beobachtungen, die allerdings zum großen Teil mit hämolytischen Systemen angestellt sind.

Gruber[601] leugnet, daß die Leukocyten die Quelle des Komplements sind, weil ambozeptorbeladene Blutkörperchen mit Leukocyten versetzt, soweit sie nicht gefressen werden, ungelöst bleiben.

Landsteiner, Lambotte & Stiennon[602] konnten in Leukocytenextrakten kein Komplement für hämolytischen Ambozeptor finden. Neufeld[603] schließt aus der verlangsamten und auch morphologisch abweichenden Hämolyse ambozeptorbeladener Blutkörperchen innerhalb der Leukocyten im Gegensatz zur rapiden Auflösung der freien beladenen Zellen durch Komplement, daß es sich bei der Auflösung innerhalb der Leukocyten nicht um Komplementwirkung handelt.

Auch die Bakteriolyse im Leukocyten verläuft übrigens nach Lambotte & Stiennon, Petterson[604], Neufeld & Hühne[605] anders als beim typischen Pfeifferschen Phänomen.

R. Pfeiffer nimmt an, daß die Umwandlung der Choleravibrionen, soweit sie in Leukocyten beobachtet wird, nur dadurch zustande kommt, daß die vorher mit Ambozeptor und Komplement beladenen Vibrionen dort ihre endgültige Auflösung erfahren.

Demgegenüber hat Weil[606] auch bei Abwesenheit von Komplement in vitro Granulabildung von gefressenen Vibrionen innerhalb der Leukocyten gesehen; er konnte mit Toyosumi[607] eine vibriozide Wirkung der isolierten Leukocyten des Meerschweinchens nachweisen. Diese Leukocytenwirkung ist am besten in Kochsalzlösung, kaum in Serum nachweisbar. Zusatz von Immunserum wirkt nicht begünstigend.

Nach Toyosumi[608] besitzen die Meerschweinchenleukocyten auch bakterizide Stoffe gegenüber Staphylococcus und Streptococcus. Diese Stoffe wirken am besten im bakterizid unwirksamen aktiven Serum.

Vielheit der Komplemente.

Die Verschiedenheit der Komplemente der verschiedenen Tierspecies bezüglich der haptophoren Gruppe ergibt sich aus den Beobachtungen, daß Immunserum, das passiv bei einer Tierspecies von Wirkung ist, bei einer anderen keinen Schutz verleiht, was sich wohl aus einem Mangel eines passenden Komplementes bei der betreffenden Tierart erklären läßt.

So fand Sobernheim[609], daß ein wirksames Anthraximmunserum eine Tierart schützt, einer anderen keinen Schutz verleiht. Hierher gehört auch die bereits oben angeführte Beobachtung Wechsbergs, daß Metschnikoff-Kaninchen-Immunserum Meerschweinchen, aber nicht Tauben bei der Injektion mit Vibrio Metschnikoff schützte, weil diese eben kein Komplement für dieses Immunserum besitzen. Injizierte er dagegen den Tauben gleichzeitig normales Kaninchenserum, so war damit eine Komplementquelle für die Ambozeptoren geschaffen und die Tiere bleiben am Leben. (Normales Kaninchenserum allein schützt nicht gegen Vibrio Metschnikoff.) Zuweilen blieb die Schutzwirkung aus, was Wechsberg darauf zurückführt, daß die betreffenden Komplemente im Körper der Versuchstiere von Zellenrezeptoren abgelenkt wurden, zu denen sie eine größere Avidität besitzen, als zu den komplementophilen Gruppen der Ambozeptoren.

Aber auch die Komplemente eines Serums hält vor allem Ehrlich und seine Schule für multipel. Dieses wurde zuerst von Ehrlich & Morgenroth, Ehrlich & Sachs[610], Neisser & Döhring, Schattenfroh[611], Wendelstadt[612] und Sachs[613] bezüglich der hämolytischen Komplemente gezeigt.

M. Neisser[614] wies im Kaninchenserum das Vorhandensein von mindestens zwei verschiedenen Komplementen nach, eines für Bakterien und eines für Zellen.

Wechsberg[615] hat analog im normalen Ziegenserum zwei Komplemente gefunden, eines für einen bakteriolytischen Ambozeptor für den Vibrio Nord-

hafen und eines für einen hämolytischen Ambozeptor für Meerschweinchenerythrocyten.

Ebenso wies Wassermann[616] im Meerschweinchenserum ein Komplement nach, das für den bakteriziden Choleraimmunkörper der Ziege paßt, nicht aber für den hämolytischen Immunkörper des Ziegenserums.

Wilde[617] führt die Resultate Neissers auf eine verschiedene Empfindlichkeit der in Betracht kommenden Elemente zurück, ohne dessen Anschauung über eine Vielheit der Komplemente zu teilen. Durch eine entsprechende Steigerung des Zusatzes der abgetöteten Milzbrandkeime ließ sich auch die hämolytische Wirkung des Kaninchenserums gegen die empfindlichen Hammel- und Ziegenblutkörper aufheben.

Aether zerstört nach Kyes & Sachs, Sclavo[618], Ottolenghi & Mori[619] das hämolytische, nach letzteren Autoren aber nicht das bakteriolytische Komplement.

Auch Rémy[620], [621], Moreschi[622—624], Neufeld & Händel[625] (Bindungsversuche bei verschiedenen Temperaturen) (s. S. 355) halten hämolytisches Komplement und bakterizides für verschieden.

Gay & Ayer[626] schließen dagegen auf Grund der Uebereinstimmung der Sera bezüglich der relativen Stärke der bakteriolytischen und hämolytischen Komplementfunktion auf die Einheitlichkeit.

Ebenso wie die hämolytischen von den bakteriolytischen Komplementen verschieden sein dürften, scheinen auch die bakteriolytischen Komplemente in einem Serum in der Mehrzahl vorhanden zu sein.

Schon Kruse[627] und Bonaduce[628], sowie Walz[629] beobachteten, daß das Erwärmen des Kaninchenserums auf 56° nicht die Bakterizidie gegenüber Milzbrand vernichtet, während nach Bail[630], [631], Petterson[632], Wilde[633], die bakterizide Fähigkeit gegen Cholera und Typhus verschwunden ist. Um das Serum gegenüber Milzbrand unwirksam zu machen, bedarf es nach Bail einer einviertel- bis halbstündigen Erwärmung auf 63° *). Daraus ergibt sich das Vorhandensein wenigstens zweier bakteriolytischer Komplemente im Serum des normalen Kaninchens. Beide Komplemente komplettieren nach Bail den Ambozeptor des Hunde- und des Kaninchenserums.

Sawtschenko[634] fand, daß das Rattenserum halbstündige Erhitzung auf 55° verträgt. Auch Bail & Petterson[635—637] haben im Serum der Ratte und bisweilen in dem des Pferdes thermostabilere Komplemente neben den durch eine Temperatur von 56° zerstörbaren nachgewiesen **).

Edna Steinhard[638] stellte Untersuchungen über die Pluralität der Komplemente an. Sie fand, daß Normalserum des Kalbes, gegenüber Coli- und Typhusbacillen geprüft, nach stundenlangem Erwärmen auf 54° nur die bakteriolytische Eigenschaft für Coli verlor, die für Typhus blieb intakt. Drei Tage altes Serum vom Pferd und Kaninchen verliert in höherem Grad sein bakteriolytisches Vermögen gegenüber Dysenteriebakterien als gegenüber Typhusbakterien. Sie weist schon darauf hin, daß man diese Tatsache nicht als einen Beweis für die Vielheit der Komplemente unbedingt anzunehmen braucht, sondern daß man sie auch mit der verschiedenen Empfindlichkeit der Bakterien gegenüber den schädigenden Einflüssen erklären kann.

Schließlich sei noch auf die eingehenden Untersuchungen von v. Muir & Browning[638a] über Komplement verwiesen.

Früher wurde als Argument gegen die Einheitlichkeit der Komplemente noch die Tatsache der Spezifizität der durch Komplementinjektion erzeugten Antikomplemente sowie die Entdeckung von Partialantikomplementen (Marschall & Morgenroth[640]) angeführt; doch ist ersteres nicht mehr stichhaltig, seitdem Moreschi sowie Gay[641], [642] erkannt haben, daß es sich da nur um die komplementablenkende Wirkung von Präzipitaten handelt, was speziell für die Bakteriolyse von Pfeiffer & Moreschi[643] näher untersucht worden ist.

---

*) Gengou[639] hat in seinen Versuchen bereits bei 55° Inaktivierung erreicht.

**) Der sogenannte Inaktivierungsversuch durch Erwärmen des Serums auf 55° liefert also keine absolute Sicherheit für die Komplementzerstörung, wenn auch bei weitem die meisten Komplemente höhere Temperaturen nicht vertragen. Durch Sachs sind übrigens im Hundeserum, und durch Noguchi im Kaltblüterserum Komplemente gefunden worden, die bereits bei halbstündigem Erwärmen auf 44—50, resp. 45—50° zerstört werden.

MORGENROTH & SACHS[644] fanden bei hämolytischen Versuchen nicht nur bei einzelnen Individuen derselben Gattung große Differenzen in der Zahl der Komplemente, sondern auch bei ein und denselben Individuen zeitlich große Schwankungen.

Auch METSCHNIKOFF nimmt entsprechend der von ihm supponierten Herkunft aus zwei verschiedenen Leukocytenarten (Mikro- und Makrophagen) zwei verschiedene Komplemente in demselben Serum an, ein gegen Bakterien wirksames („Mikrocytase") und ein gegen Zellen gerichtetes („Makrocytase").

BUCHNER, BORDET, GRUBER, WILDE sind im Gegensatz zu EHRLICH & MORGENROTH der Ansicht, daß das Komplement (Alexin) ein und desselben Serums einheitlich sei.

WILDE gelang es, durch große Mengen abgetöteter Bakterien ein Serum sowohl seiner bakteriziden wie hämolytischen Fähigkeit zu berauben, woraus er auf die Einheitlichkeit der Alexine schließt. In diesem Falle handelt es sich jedoch nach EHRLICH & SACHS[645] nicht um eine spezifische Verankerung, sondern um eine einfache mechanische Ausfällung durch die hinzugesetzten großen Bakterienmengen. Jedoch kam schon BORDET[646] bei einer diffizileren Versuchsanordnung zu ähnlichen Resultaten.

Er zeigte, daß ein hämolytisches Normalserum durch normale Erythrocyten nicht seines ganzen Komplementgehaltes beraubt werden kann, so daß das abzentrifugierte Serum Erythrocyten einer anderen Tierspecies oder Bakterien noch aufzulösen vermag. Dieser Umstand scheint zunächst für eine Pluralität der Komplemente zu sprechen. BORDET erklärt die Erscheinung jedoch aus der Unfähigkeit normaler Erythrocyten das gesamte, nach ihm einheitliche Komplement zu absorbieren. Dagegen fand er, daß mit spezifischen Immunkörpern beladene sensibilisierte Bakterien oder Erythrocyten die Fähigkeit gewonnen haben, das gesamte Komplement zu verankern. Denn bei nachträglichem Zusatz von andersartigen sensibilisierten Blutkörperchen oder Bakterien zum Zentrifugat blieben dieselben ungelöst und umgekehrt. Durch die einmalige Einwirkung auf eine Art dieser sensibilisierten Elemente wird also sämtliches Komplement entzogen.

EHRLICH & MARSHALL[647] erklären jedoch diese Erscheinung dadurch, daß der zu den Erythrocyten zugefügte Ambozeptor, wie schon EHRLICH & MORGENROTH erkannt haben, neben einer cytophilen sehr viele komplementophile Gruppen besitzen kann, also einen „Polyzeptor" darstellt und daß bei hoher Avidität nicht nur das für ihn avideste und wesentliche „dominante" Komplement, sondern auch alle übrigen Komplemente vermöge der Vielheit der komplementophilen Gruppen gleichzeitig mit ausgefällt werden. Unter Umständen soll nach EHRLICH & SACHS sogar das dominante Komplement nicht einmal die stärkste Affinität besitzen.

(NOGUCHI sowie v. LIEBERMANN identifizieren das Komplement mit Seifen, die in ihrer hämolytischen Wirkung durch die Verbindung mit Serum gehemmt sind. [Bei der Lyse soll das Komplement verbraucht werden.] Die Ambozeptoren, denen ein Säurecharakter vindiziert wird, sollen die Eigenschaft haben, die Seifen aus ihrer Verbindung mit dem hemmenden Eiweiß frei und damit wirksam zu machen. Teilweise abweichende Befunde siehe bei F. SACHS & FRIEDEMANN, HECKER, v. DUNGERN & COCA, SACHS & ALTMANN, BAUER, KNAFFL-LENTZ u. a.; Näheres im Kapitel „Hämolyse".

DAUTWITZ & LANDSTEINER vertreten gleichfalls die Anschauung, daß die Komplemente Lipoid-Eiweißverbindungen sind.)

Die Abhängigkeit der Komplementwirkung von der Konzentration des Komplements ist (speziell für Hämolyse) von KISS[648] sowie SCHELLER[649] nachgewiesen; vgl. auch RUSZNYAK[649a].

OTTOLENGHI[650] nimmt an, daß im Fibrin bzw. in den vom Fibrin eingeschlossenen Blutplättchen ein komplementartiger Körper für Milzbrandantikörper, nicht aber, wie das auch schon SCHNEIDER angegeben hat, gegenüber Typhusbakterien, Cholera usw. vorhanden

ist. Nach den Untersuchungen von Gruber & Futaki handelt es sich allerdings bei diesen komplettierenden Bestandteilen der Blutblättchen nicht um ein Komplement im eigentlichen Sinne.

Montuori[649b] fand eine Abnahme des bakteriziden Komplements nach Milzexstirpation; von Blumreich & Jacobi[649c] bestritten.

Gengou hat in Leukocytenextrakt „Komplement" nachgewiesen. Doch handelt es sich hier wahrscheinlich nur um den thermostabilen Körper von Korschun und Morgenroth.

Eine Vermehrung des Komplementgehaltes im Serum beim Kaninchen beobachteten Friedberger & Bettac[650a] im Fieber. Müller[650b] fand, daß experimentell hypertrophische Schilddrüse, erzeugt durch Injektion von Thyroidea-Präparaten, das hämolytische und bakterizide Alexin im Serum sehr stark vermehrt.

Dasselbe zeigte Maré[650c] für die Opsonine des normalen Serums.

Nolf[650d], sowie Müller fanden eine Vermehrung des Komplementes durch die Injektion artfremden Serums.

Das gleiche erreichte P. Th. Müller[650e] durch Injektion von Aleuronat, Pepton und Bouillon.

Bulloch[650f] erzielte eine Komplementvermehrung bei immunisierten Tieren durch die Injektion von Hetol. Bei normalen Tieren konnte Busse[650g] eine entsprechende Wirkung des Hetols allerdings nicht bestätigen. Er fand bei Hyperleukocytose im übrigen keine Komplementvermehrung. Dagegen eine Verminderung bei Leukopenie.

Lüdtke[650h] will nach Pilokarpininjektionen Vermehrung des Komplements beobachtet haben.

Nach L. Müller sind jedoch die Resultate höchst unzuverlässig und die Ausschläge nur minimal.

Sweet[650i], sah eine Komplementvermehrung beim Phloridzindiabetes, die L. Müller, und wohl mit Recht, auf die Erhöhung der Konzentration des Plasmas zurückführt.

Nach L. Müller ruft die subkutane Injektion von Thyreoideasubstanzen beim Kaninchen eine Komplementvermehrung hervor, die nach einer kurzen negativen Phase eintritt und etwa nach 18 bis 24 Stunden, das Maximum erreicht, dann folgt in der Regel bis zu 48 Stunden ein Wiederabfallen, noch begleitet von einer zweiten negativen Phase mit baldiger Wiederrückkehr zur Norm.

Aehnlich wie beim Kaninchen liegen die Verhältnisse beim Hund, und auch bei Meerschweinchen, wenn hier auch weniger ausgesprochen.

Auch eine Vermehrung des Ambozeptors durch die Behandlung mit Schilddrüsen findet statt.

Auch die Verfütterung von Schilddrüsensubstanzen bewirkt die gleiche Veränderung der Serumqualitäten.

Die Exstirpation der Schilddrüse bewirkt sowohl beim Hund, wie beim Meerschweinchen eine Abnahme vom Komplement und Ambozeptor (Hämolysin).

Dieselben Wirkungen wie durch Schilddrüsensubstanzen werden durch Jod erzielt. In analoger Weise wie die hämolytischen, werden auch die bakteriziden Schutzstoffe vermehrt, so daß in entsprechender Weise mit Jod behandelte Tiere die für die Kontrollen tödlichen Dosen von Vibrionen vertragen.

Auch L. Müller konnte die Leukocyten nicht als Ursprungsstätte des Komplementes auffinden. Zusatz von Schilddrüse und Jod-

präparaten, die im Organismus nach seinen Erfahrungen eine Vermehrung des Komplementgehaltes bedingen, bewirkten, in vitro zu einer Leukocytenaufschwemmung zugesetzt, nicht einmal eine Spur von Komplementsekretion.

Eine Verminderung des Komplementgehaltes nach Leberexstirpation hat NOLF[650k] beobachtet (Bullet. Acad. Belg. 1908). Auch FRIEDBERGER & SEELIG[650l] erzielten beim Frosch analoge Befunde.

Das Phänomen der Komplementablenkung.

NEISSER & WECHSBERG[651] haben gefunden, daß bei Versuchen im Reagenzglase ein Ueberschuß von inaktiviertem Immunserum (d. h. ein Ueberschuß von Ambozeptoren) beim Vorhandensein einer für die Auflösung einer konstanten Bakterienmenge nötigen Komplementmenge imstande ist, die bakterienvernichtende Wirkung der Mischung zu schwächen oder ganz aufzuheben. In solchen Fällen soll der Ueberschuß von Ambozeptoren, der nicht an die Bakterien zur Verankerung kommt, eine höhere Avidität zu den Komplementen besitzen und diese den bereits an die Bakterien verankerten Ambozeptoren wegschnappen, so daß die auflösende Wirkung ausbleiben muß (Fig. 4).

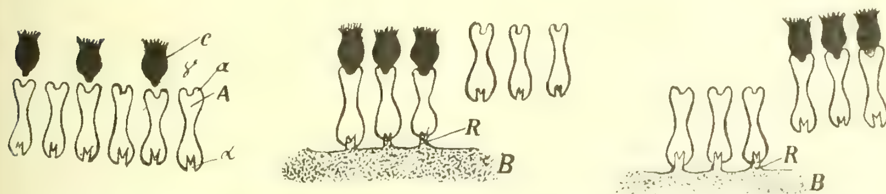


Fig. 4. Modifiziert nach NEISSER & WECHSBERG. Münch. med. Wochenschr., 1901. Schema der Komplementablenkung. A Ambozeptor. a Komplementophile Gruppe des Ambozeptors. α (Cyto-) Bakteriophile Gruppe des Ambozeptors. C Komplement. γ Haptophore Gruppe des Komplements. B Bakterium. R Rezeptoren des Bakteriums.

I. Im Serum sind eine Reihe Komplemente und eine größere Anzahl von Ambozeptoren frei vorhanden.

II. Durch die Bindung der Ambozeptoren an das Bakterium ist gleichzeitig die Affinität der komplementophilen Gruppe erhöht worden; die Komplemente sind infolgedessen an die vom Bakterium verankerten Ambozeptoren herangegangen (Auflösung).

III. Nicht die an das Bakterium verankerten, sondern die überschüssigen Ambozeptoren zeigen eine erhöhte Affinität für das Komplement (Komplementablenkung).

Die Komplementablenkung wäre, wie NEISSER & WECHSBERG meinen, nicht möglich, wenn die BORDETsche Auffassung, wonach der Ambozeptor kein Zwischenkörper im EHRLICHschen Sinne ist, sondern nur die Funktion hat, das Bakterium für die Einwirkung des Alexins (Komplementes) zu sensibilisieren, zu Recht bestände.

Die Erscheinung der Komplementablenkung ist von anderer Seite zum Teil auf Agglutination der Bakterien oder auf normale Antikomplemente (METSCHNIKOFF) oder auf Antikomplemente, welche beim Immunisierungsprozeß entstehen (GRUBER[652]) und sich beim Zusatz großer Dosen von Immunserum geltend machen sollen, zurückgeführt worden.

Zum Beweis der Richtigkeit seiner Auffassung führt GRUBER an, daß es ihm auch schon mit kleinen Dosen inaktiven, bakteriziden Immunserums gelungen sei, die komplettierende Wirkung aktiver Normalsera für ein (hämolytisches) Immunserum aufzuheben, während ein entsprechendes Normalserum dieses nicht tut.

Wechsberg[653] bestreitet die Richtigkeit der Gruberschen Auffassung. Er erklärt sich die Hemmungswirkung in diesem Falle dadurch, daß das bakterizide Immunserum die Komplemente vermöge der höheren Avidität seiner Ambozeptoren an sich gerissen habe. Gruber[654] führt Wechsbergs abweichende Resultate darauf zurück, daß dieser nicht genau seine Versuchsordnung eingehalten habe, was Wechsberg[655] zu einer abermaligen Entgegnung veranlaßt.

Schon Neisser & Wechsberg konnten die Unabhängigkeit der Komplementablenkung von der Agglutination dadurch beweisen, daß ihr Phänomen auch bei Verwendung von agglutinierten Bakterien bei Zusatz von Immunserum gelang.

Die Einwände gegen das Phänomen der Komplementablenkung wurden dann eingehend von Lipstein[656] widerlegt. Lipstein hatte zwei gleich stark agglutinierende Sera, von denen nur das eine bei bestimmter Kombination Komplementablenkung zeigte; daraus folgt, daß dieses Phänomen nichts mit der Agglutination zu tun hat. Auch normale Antikomplemente im Sinne Metschnikoffs täuschen nicht die Komplementablenkung vor, wie vor allem aus einem Versuche hervorgeht, in dem das Serum eines normalen Kaninchens nicht ablenkend wirkte, während das Serum desselben Tieres durch den spezifischen Immunisierungsprozeß diese Fähigkeit erlangte.

Durch Zusatz von abgetöteten Bakterien einer bestimmten Species zu einem Serum läßt sich, wie bekannt, der Ambozeptor dem Serum entziehen. Für diese Bakterienart hat nunmehr das Serum seine komplementablenkende Fähigkeit verloren, während sie für andere Bakterienarten erhalten bleibt. Diese Versuche demonstrieren, daß der durch die Immunisierung entstandene spezifische Ambozeptor der ablenkende Faktor ist und kein Antikomplement im Sinne Grubers in Frage kommt.

Jedoch ist die Erklärung, die Neisser & Wechsberg für das Phänomen gegeben haben, wieder durch Levaditi[657] bestritten worden. Wäre Neisser & Wechsbergs Ansicht richtig, so müßte nach Levaditi ein Serum, in dem die Ablenkung zur Beobachtung gekommen ist, stark bakterizid wirken und eingebrachte Bakterien auflösen, weil in ihm Ambozeptoren und Komplement enthalten sind. Dieses ist aber nicht der Fall. Levaditi erklärt daher die Erscheinung unter der Annahme, daß ein Teil der Ambozeptoren derartiger Sera inaktiv ist und mit Komplement beladen wohl an die Bakterien herantritt, aber vermöge seiner Schwäche keine Auflösung zu bewirken imstande ist. Als Beweis hierfür führt er an, daß man durch die Bakterizidie schädigende Einflüsse das Phänomen der Komplementablenkung verstärken kann.

Weiteres über Komplementablenkung siehe bei Buxton[657a], Gay[657b].

Die Folgerungen, die Neisser & Wechsberg aus den Reagenzglasversuchen für die praktische Verwendung des Heilserums ziehen, sind nicht völlig begründet.

Im Tierkörper gehört die Komplementablenkung jedenfalls zu den größten Seltenheiten.

Versuchen von Löffler & Abel[658], sowie Pfeiffer, die Neisser & Wechsberg zur Erklärung hier anführen, haben sie eine unrichtige Deutung zugrunde gelegt. Es handelt sich in diesen Pfeifferschen Versuchen, in denen von den mit 1 Oese Cholera und verschiedenen Dosen Immunserum geimpften Tieren nur die Tiere, die mit hohen wie die mit zu niederen Mengen geimpft waren, zugrunde gingen, um etwas ganz anderes. Das Eingehen der Tiere, die mit den hohen Dosen behandelt waren, ist an typischer Choleravergiftung infolge der rapiden Auflösung und der dadurch bedingten Ueberschwemmung des Organismus mit Gift erfolgt, nicht durch eine Ablenkung von Komplementen, da ja in diesem Falle der Tod unter dem Bilde einer ausgesprochenen Infektion hätte eintreten müssen. Ich habe bei Nachprüfung der Neisser-Wechsbergschen Versuche auch Tierexperimente berücksichtigt und gefunden, daß bei Cholera selbst die 15000-fache Menge der zur Lösung nötigen Zahl von Ambozeptoren im Peritoneum des Meerschweinchens keine Komplementablenkung hervorzurufen imstande ist.

Leclainche & Morel[659] haben allerdings bei Experimenten mit malignem Oedem, Rauschbrand und Schweinerotlauf, ähnlich wie in den oben besprochenen Pfeifferschen Versuchen, eine Dosis optima neutralisans des Serums beobachtet, unterhalb wie auch oberhalb deren die Schutzkraft nicht vorhanden war.

Auch WASSERMANN hat, wie ich einer mündlichen Mitteilung verdanke, das Phänomen von NEISSER & WECHSBERG gegenüber Schweinerotlaufbacillen im Meerschweinchenperitoneum deutlich ausgesprochen gefunden.

Es dürfte aber auch für diese Fälle die von R. PFEIFFER angenommene Deutung das Phänomen auf das einfachste erklären.

Die antagonistische Funktion normaler Sera.

PFEIFFER & FRIEDBERGER[660] haben die Beobachtung gemacht, daß Normalserum durch Kontakt mit Bakterien die Fähigkeit erlangt, die bakteriolytische Wirkung des Immunserums aufzuheben. Es gelingt nicht nur das Serum in vitro, sondern auch in vivo antibakteriolytisch, „antagonistisch" zu machen. Diese hemmende Wirkung ist eine streng spezifische, und zwar bezüglich der Bakterienart, nicht aber bezüglich der Tierspecies, von welcher das Hemmungsserum stammt. Man kann sogar das artgleiche, ja sogar das Serum desselben Individuums hemmend machen. Die hemmende Wirkung macht sich nur gegenüber einem gewissen Multiplum von Ambozeptor geltend. Bei Ambozeptorüberschuß tritt sie zurück. Es gelingt stets auch nach längerem Kontakt aus einer Mischung des Hemmungsserums mit Immunserum die Ambozeptoren durch neu zugesetzte Bakterien zu entziehen, ohne daß die Hemmungsqualität sich ändert. Die Erhitzung der Bakterien auf 100° schädigt nicht ihre Fähigkeit, Normalserum hemmend zu machen. Es handelt sich also nicht um eine vitale Funktion der Bakterien. Durch entsprechende Kontrollversuche mit destilliertem Wasser, Kochsalzlösung usw. ließ sich feststellen, daß weder beim Zentrifugieren zurückbleibende Bakterienleibessubstanz noch in Lösung gegangene Bakterienleiber die Ursache der Hemmungswirkung sind. Vorher $^3/_4$ Stunde auf 58° erhitztes Normalserum erhält durch Bakterienausfällung dieselbe hemmende Wirkung. Die antagonistischen Substanzen sind weder als Antiambozeptoren noch als Antikomplemente aufzufassen. BAIL[661] glaubt, daß Stoffwechselprodukte der Bakterien bei der Ausfällung in das Suspensionsserum übergehen nach Art der Aggressine. Diese Hypothese ist jedoch nicht stichhaltig, wie PFEIFFER & FRIEDBERGER[662] in einer weiteren Arbeit zeigen konnten, denn die Bildung der antiantagonistischen Substanz ist unabhängig von der Virulenz. Sie gelingt auch mit *gekochten* Bakterien und es sind Schwankungen bezüglich der Individualität des verwendeten Serums vorhanden bei Verwendung einer und derselben Bakterienkultur. Endlich ist die Wirkung nicht nur unabhängig von der Virulenz, sondern innerhalb weiter Grenzen auch von der Menge der verwandten Bakterien.

SACHS[663] nahm zur Erklärung der antagonistischen Wirkung an, daß in einer Mischung von Immun- und Normalambozeptoren die letzteren eine höhere Affinität zum Komplement haben. Die nach Fällung mit irgendeiner Bakterien- oder Blutkörperchenart im Normalserum zurückbleibenden Mengen von Ambozeptor der verschiedensten Art sollen also deshalb vermöge ihrer höheren Affinität zum Komplement dieses von den zugesetzten Immunambozeptoren nach Art des NEISSER-WECHSBERGschen Phänomens (s. S. 371) ablenken. Auch diese Erklärung ist nach den Untersuchungen der beiden Autoren nicht zulässig. Endlich hat GAY[664] die Annahme vertreten, daß es sich um eine Präzipitationswirkung zwischen den im antagonistischen Serum

befindlichen Leibessubstanzen und dem zugesetzten Immunserum mit konsekutiver Komplementablenkung handle. Dadurch käme dann eine Behinderung der bakteriolytischen Funktion des Immunserums zustande, wie wir sie bei den antagonistischen Seris sehen. Auch diese Annahme ist hinfällig, denn ausgefällte Normalkaninchensera besitzen unter Bedingungen, wie sie denen im antagonistischen Versuch entsprechen, häufig eine mehr weniger ausgesprochene antihämolytische Wirkung; diese Wirkung ist jedoch nicht auf Komplementbindung seitens eines sich bildenden Präzipitates im Gayschen Sinne zurückzuführen, da die antihämolytische Wirkung auch ohne Zusatz von Präzipitin (Choleraimmunserum) in quantitativ völlig gleicher Weise eintritt[665].

Ueber Virulenz und den Rezeptorenapparat des Bakteriums auf Grund der Ergebnisse mit Immunseris.

Die Untersuchungen über die Bindungsverhältnisse von Ambozeptoren des Serums und Rezeptoren der Bakterien stützen sich auf die voraufgegangene wichtige Entdeckung Ehrlichs & Morgenroths über die Verankerung von Erythrocyten mit den auf sie eingestellten Immunkörpern in vitro.

In ganz analoger Weise wie die Blutkörperchen entziehen auch Bakterien im Reagenzglase den Seris die für sie passenden Ambozeptoren. Derartige Untersuchungen ergeben nicht nur, wie bereits dargestellt wurde, eine große Mannigfaltigkeit der bei der Immunisierung auftretenden einschlägigen Körper eines Serums, sondern offenbaren nach den Untersuchungen von R. Pfeiffer & Friedberger, Friedberger, Hetsch & Lentz[666] auch eine bis dahin ungeahnte Kompliziertheit im Rezeptorenapparat der Bakterien.

Bereits 1890 hat Haffkine[667] beobachtet, daß Humor aqueus des normalen Kaninchens wohl avirulente nicht aber virulente Typhusbacillen abtötet. Leclef[668] fand, daß das Serum avirulente Kaninchenseptikämie prompt auflöste, gegenüber virulenten gänzlich unwirksam war.

van de Velde[669] konstatierte alsdann, daß avirulente Staphylokokkenkulturen durch aktives Kaninchenserum in viel höherem Grad abgetötet wurden als virulente. Es handelt sich nach ihm nicht um Sekretion von bakteriellen Produkten, die die Schutzkörper des Blutes schädigen, noch um eine Differenz in der Wachstumsenergie, vielmehr beruht das differente Verhalten auf einer vermehrten Empfindlichkeit der avirulenten Bakterienrassen gegenüber bakteriziden Substanzen.

Nadoleczny[670] kam bei Versuchen über das Verhalten verschieden virulenter Cholera- und Typhuserreger im aktiven Meerschweinchen- und Kaninchenblut zu dem gleichen Resultate wie van de Velde.

Schon vorher haben Pfeiffer & Kolle[671] gezeigt, daß man zur Auflösung virulenter Cholera- und Typhusbakterien eine weit größere Immunserummenge braucht als für avirulente, eine Beobachtung, die alsbald von Bordet[672-674] bestätigt wurde. Danysz[675] hat weiterhin zuerst gefunden, daß virulente infolge der Züchtung im Rattenserum mit einer Schleimkapsel umgebene Milzbrandbacillen dem Serum die doppelte Menge bakterienfeindlicher Stoffe entziehen, als normale Anthraxbacillen *).

Die Untersuchungen über das Wesen der Bakterienvirulenz von R. Pfeiffer & Friedberger, angestellt an Choleravibrionen, ergaben dann weitere Aufschlüsse über diesen Punkt.

Durch eine vergleichende Prüfung von Cholerastämmen verschiedener Virulenz ergab es sich, daß bei 60° abgetötete virulente Cholerabacillen aus einem

*) Die Bildung einer Schleimhülle beobachtete auch Bordet bei virulenten Streptokokken im Tierkörper.

Choleraziegenserum bedeutend mehr Ambozeptoren zu entziehen imstande sind, als die gleiche Menge avirulenter.

Diese Tatsache läßt sich nur unter der Annahme erklären, daß die virulenten Vibrionen mehr oder mit stärkerer Affinität ausgestattete haptophore Gruppen besitzen, als die avirulenten.

Die absolute Menge der durch eine gewisse Vibrionenanzahl aus einem Serum verankerten Ambozeptoren ist in analoger Weise, wie dies Eisenberg & Volk[676, 677] für die Agglutinine konstatiert haben, abhängig von dem Gehalt des Serums an Immunitätseinheiten und diesem proportional.

Der Stamm Cholera Löffler absorbiert z. B. aus einer Choleraserumverdünnung 1:100 = 110 I.-E. 30—60 I.-E., aus der Verdünnung 1:2 = 550 I.-E. dagegen 300—400 I.-E.

Auf einen größeren Reichtum an Rezeptoren ist es zurückzuführen, daß bei der Immunisierung durch abgetötete Kulturen mit virulenten Cholerastämmen ein relativ höherer Schutzwert erzielt wird, als mit der gleichen Menge avirulenter.

Diese Tatsache wurde zuerst von der deutschen Pestkommission (Gaffky, Pfeiffer, Sticker, Dieudonné) bei der aktiven Immunisierung von Affen mit verschiedenen virulenten Peststämmen konstatiert, später von Kolle, Hetsch & Otto[678, 679] auch bei der Immunisierung von Ratten mittels abgetöteter Pestkulturen festgestellt, und dann eingehend von R. Pfeiffer & Friedberger mittels der Vaccinierungsmethode mit kleinen Dosen an einer Reihe von Cholerastämmen verschiedener Virulenz studiert. Aehnlich wie bei Cholera liegen die Verhältnisse nach Kruse und seinen Schülern bei Dysenterie.

Auf Grund der erhöhten Immunkörperbildung und Bindung durch virulente Bakterien stellt R. Pfeiffer eine neue Theorie der Immunität auf, derzufolge die Bakterien eine relativ passive Rolle bei dem ganzen Vorgang spielen.

Dem Tierkörper stehen, wie ohne weiteres verständlich ist, in einer gegebenen Zeit an einer bestimmten Stelle (dem Ort der Infektion) nur beschränkte Mengen von Schutzstoffen zur Verfügung. Es ist nach dem Vorausgehenden klar, daß diese Schutzstoffe für um so weniger Bakterienindividuen zur Sättigung ausreichen, je höher die Virulenz der Bakterien, d. h. ihre Avidität zu den Schutzstoffen ist. Die Bakterien, die sich mit genügenden Ambozeptorenmengen beladen haben, werden aufgelöst.

Wie es den Beobachtungen R. Pfeiffers und seines Schülers Radziewski entspricht, ist ja stets auch bei der Infektion des Organismus mit virulenten Bakterien die Vermehrung mit einer Zerstörung der Keime im Verlaufe des Krankheitsprozesses verbunden, darauf sollen ja die toxischen Erscheinungen auch bei reinen Infektionskrankheiten beruhen.

Die virulentesten, d. h. avidesten Bakterien wirken also gewissermaßen als Blitzableiter für die übrigen, indem sie die Abwehrstoffe des Organismus verankern und damit den übrigbleibenden Bakterienindividuen die Möglichkeit eines ungestörten Wachstums gewähren. Dazu kommt noch, daß die zur Resorption gelangenden Spaltprodukte der der Auflösung verfallenden Keime den Organismus des Tieres schwächen.

Mit der Annahme, daß die Schutzstoffe von den Bakterien, an die sie verankert sind, zerstört würden, wäre die Beobachtung von R. Pfeiffer sowie Radziewski (von Neufeld übrigens bestritten, s. vorne) kaum vereinbar, daß während des **ganzen** Verlaufes auch einer tödlichen Infektion Bakterien zugrunde gehen; es dürfte dann nur in den ersten Stadien des Prozesses sich ein Verschwinden von Bakterien nachweisen lassen.

Hier bringen nun Untersuchungen von R. Pfeiffer & Friedberger[681] Aufklärung.

Es ergibt sich aus ihrer Arbeit zunächst, daß die Bakterien durch ihren Lebensprozeß die Ambozeptoren nicht zu zerstören vermögen.

Wenn man Choleravibrionen in Bouillon züchtet, der eine bestimmte Menge eines genau titrierten Choleraimmunserums zugesetzt ist, so ist noch nach Wochen keine Abnahme in der Zahl der ursprünglich vorhandenen Immunitätseinheiten zu konstatieren. Aber auch bei der Bakteriolyse im Tierkörper findet keine nachweisbare Zerstörung der Immunkörper statt, zum mindesten wird die über eine I.-E. hinausgehende Menge von Antikörpern, auch wenn sie vor der Bakteriolyse an die Bakterienrezeptoren verankert waren, bei der durch das Komplement verursachten vollständigen Auflösung wieder frei und aktionsfähig.

Es wäre nicht ausgeschlossen, daß überhaupt kein Verbrauch von Antikörpern (selbst in minimalsten Mengen) statt hat, wenn auch ein absolut sicherer Beweis hierfür sich nicht auf Grund unserer heutigen Methoden erbringen läßt. Man müßte dann zunächst annehmen, daß auch die kleinste Menge von Immunkörpern allmählich die größten Mengen Bakterien zu lösen imstande sei. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß die Vermehrung der Bakterien bei nicht genügenden Mengen von Immunserum schneller erfolgen kann, als ihre Zerstörung, so daß auf diese Weise der Infektionsprozeß fortschreitet.

Trotzdem bei der Bakteriolyse also immer wieder Immunkörper frei werden, scheint übrigens nach den Untersuchungen von R. Pfeiffer & Friedberger die Verbindung Ambozeptor-Bakterienrezeptor eine ziemlich feste zu sein, vgl. hierüber auch die oben angeführten Beobachtungen von Morgenroth.

Nach der geistvollen Virulenztheorie Kruses hat man an den Bakterien zwei Gruppen von Rezeptoren zu unterscheiden: 1) solche, die die antibakteriellen Immunkörper, also die „Gifte", im Sinne des Bakteriums zuleiten; 2) solche, die sie ablenken = „Aggressine" (danach sind die Aggressine gewissermaßen die Schutzkörper des Bakteriums; giftzuleitende und giftableitende Bindegruppen).

Die Virulenz ist nun durch das gegenseitige zahlenmäßige und Affinitätsverhältnis dieser beiden Gruppen zu den Antikörpern bedingt (s. Kruse, Bd. I, S. 1060).

Denys & van der Velde [682], [683] suchen die Virulenz auf Grund des Vorhandenseins von leukocytentötenden Stoffen, „Leukozidinen", in den Bakterien zu erklären, die von van der Velde entdeckt und von Bail [684] und Lingelsheim [685], sowie von Neisser & Wechsberg [686] näher studiert wurden. Nach den Untersuchungen der letzteren Autoren an Staphylokokken sind die „Leukozidine" mit den „Bakteriohämolysinen" nicht identisch.

Deutsch [687] nimmt neben den Leukozidinen noch aktive Abwehrsubstanzen an, die von den Bakterien zum Schutze gegen die bakterienfeindlichen Kräfte des Organismus, speziell nach seiner Ansicht gegen die Leukocyten produziert werden; von der Bildungsintensität dieser „Leukotoxine", die eine spezifische differente Wirkung auf die einzelnen Tierspecies entfalten, soll nach ihm die Virulenz abhängig sein. Virulenz ist nach Deutsch reichlicher Gehalt der Bakterien an Leukotoxinen (Mesodermalzellengift); wirksames Immunserum ist ausgezeichnet durch den reichen Gehalt an Antileukotoxinen.

Es sind das Vorstellungen, die an die von Bail über Bakterienaggressine anklingen.

Auch Bail hat in Konsequenz seiner Theorie die Aggressivität mit der Virulenz in Beziehung gebracht und unterscheidet je nach der Fähigkeit der Bakterien, Aggressine zu bilden, 3 Gruppen.

1) Ganzparasiten. Hierher gehören die Bakterien, die schon in den kleinsten Dosen Infektion hervorrufen, z. B. Pestbacillus für Mensch und Ratte, Schweineseuche, Hühnercholera für Kaninchen usw.

2) Halbparasiten, d. h. Bakterien, die erst in gewissen Dosen eine tödliche Infektion bedingen, z. B. Cholera und Typhus für das Meerschweinchen.

3) Saprophyten, d. h. Bakterien, die kein Aggressin in nennenswerten Mengen zu bilden vermögen.

Wenn der Organismus auf die Injektion der Bakterien zu gewissen reaktiven Veränderungen, d. h. zu Schutzkörperproduktion

angeregt wird, so war auch umgekehrt zu vermuten, daß eben diese Schutzstoffe beim Organismus des Bakteriums, sofern sie diesen nicht vernichten, gewisse Veränderungen veranlassen würden.

Eine Reihe von Autoren haben die Beeinflussung der Bakterien durch Immunserum in vitro studiert.

Ein noch so wirksames Immunserum kann ohne Komplement Bakterien in vitro nicht auflösen; auch ist die bakteriolytische Fähigkeit im Reagenzglase überhaupt nur eine beschränkte und bei stärkerer Bakterieneinsaat wird das Komplement bald verbraucht sein, so daß eine ungehinderte Entwickelung der eingebrachten Bakterien nunmehr erfolgen kann.

Dieses ergibt sich schon aus den ersten Versuchen über die Bakterizidie. In Normal- und Immunseris war stets bei großer Einsaat auf eine Periode der Keimverminderung eine solche unbeschränkten Wachstums gefolgt.

Immerhin könnte der im Immunserum enthaltene Ambozeptor die Bakterien so weit schädigen, daß ihre Virulenz herabgesetzt wäre.

Derartige Beobachtungen wurden in der Tat von METSCHNIKOFF[688] bei Untersuchungen der Virulenz von in Hammelimmunserum gewachsenen Anthraxbacillen gegenüber Kaninchen gemacht; von CHARRIN[689, 690] für den in Immunserum gezüchteten Pyocyaneus und von diesem Autor sowie von ROGER[691, 692] für den in gleicher Weise gezüchteten Staphylococcus bestätigt.

Die Abschwächung der Virulenz war jedoch nur vorgetäuscht durch die Wirkung der gleichzeitig mit eingespritzten Immunsera, in denen die Mikroorganismen gewachsen waren. Sobald die Bakterien von der Nährflüssigkeit getrennt waren, gelang es METSCHNIKOFF[693] nachzuweisen, daß die Virulenz tatsächlich erhalten geblieben war.

Unter den gleichen Kautelen gelangten zu ganz analogen Resultaten ISAEFF[694] mit Pneumokokken, SANARELLI[695] und BORDET[696] mit Streptokokken, MESNIL[697] mit Schweinerotlaufbacillen.

Eine Steigerung der Virulenz erlangten ROUX & SANARELLI nach der Methode von METSCHNIKOFF, ROUX & SALIMBENI, indem sie Choleravibrionen in ein Kollodiumsäckchen eingeschlossen immunen Tieren in die Bauchhöhle brachten.

VALLÉE[698] erreichte eine Erhöhung der Virulenz durch Züchtung von in Kollodiumsäckchen eingeschlossenen Schweinerotlaufbacillen im Peritoneum immunisierter Kaninchen. Bei normalen Tieren trat eine entsprechende Veränderung nicht ein.

Auch WALKER[699] fand eine Zunahme der Virulenz bei Züchtung in Immunserum. Während er die Virulenzzunahme bei Tierpassagen als die Folge einer natürlichen Zuchtwahl (Uebrigbleiben der virulentesten Individuen) auffaßt, erklärt er die Virulenzsteigerung bei Züchtung im Serum als Folge einer Vermehrung der die Immunkörper bindenden Gruppen auf Grund der EHRLICHschen Theorie wie folgt: Die von den Immunstoffen des Serums infolge der vorhandenen Affinität besetzten Rezeptoren des Bakteriums werden zur Neubildung angeregt genau wie die Rezeptoren des tierischen Organismus, wenn Bakterienprotoplasmamoleküle an sie herantreten.

HAMBURGER[700] kommt zu ähnlichen Resultaten. Sowohl die Virulenz des Bakteriums als auch die Immunität des Tieres sind nach ihm ein Ausdruck der Angewöhnung, wie er jedem lebenden Organismus und somit auch dem Bakterium zukommt. Durch Gewöhnung eines Mikroorganismus an die Schutzstoffe einer Tierspecies in vitro wird er eine Immunität gegen diese erwerben, die wir als Virulenz zu bezeichnen pflegen. Dementsprechend gelang es HAMBURGER, Cholerabacillen durch Züchtung in verdünntem Anticholerameerschweinchenserum virulenter zu machen.

C. SHAW[701] kam bei Versuchen mit Cholera zu keinem positiven Resultat. Dagegen konnte er Milzbrand und Typhus durch wiederholte Züchtung auf Blutserumagar virulenter machen. Er erklärt dieses durch eine natürliche Auslese infolge der bakteriziden Wirkung des Immunserums, eine Erklärung, die jedoch für diese Versuchsanordnung sicher unzutreffend ist.

R. PFEIFFER[702] kam bei Züchtung von Choleravibrionen in Ziegencholeraimmunserabouillon und Ziegencholeraimmunserumgelatine zu dem Resultate, daß zwar eine Erhaltung der Virulenz auf der ursprünglichen Höhe sich erzielen lasse, jedoch keine Steigerung derselben eintritt.

Das Wachstum der Vibrionen war in PFEIFFERS Versuchen gerade in der mit Serum versetzten Gelatine (Stichkulturen) spärlicher als in den Kontrollröhrchen. Dennoch war die Virulenz der ersteren Kulturen, wie erwähnt, eine

höhere, was gegen die alte Auffassung von Shirnow[703] spricht, daß die Erhöhung der Virulenz nur die Folge einer erhöhten Wachstumsenergie sei*).

Trommsdorff[704] hatte die Beobachtung gemacht, daß durch wiederholte Uebertragung in inaktives Immunserum eine Gewöhnung der Typhusbakterien an die Alexine eintrete, so daß sie nunmehr nicht mehr der Einwirkung eines bakteriziden Serums unterliegen. Auch Cohn[705], der diese Versuche Trommsdorffs einer Nachprüfung unterzog, kam zu der Ansicht, daß durch die Züchtung in dem Immunserum eine „Serumfestigkeit" erzielt wurde, die nach seiner Meinung als „Komplementfestigkeit" anzusehen ist, weil sie bei analoger Züchtung in inaktivem Immunserum nicht zustande kommt. Die Serumfestigkeit ist nach Cohn nicht spezifisch.

Die Untersuchungen von R. Pfeiffer & Friedberger geben weiterhin Aufschluß über die große Zahl von Rezeptoren, die ein virulenter Choleravibrio besitzen muß.

Pfeiffer hatte gefunden, daß das Filtrat des Peritonealexsudates von Meerschweinchen, in dem eine bestimmte Dosis von Choleravibrionen durch eine Menge von Immunserum zur Auflösung gebracht worden war, die nur ein geringes Multiplum der I.-E. darstellte, beim Kaninchen bei intravenöser Injektion eine fast so starke Antikörperproduktion hervorrief, wie die Injektion einer entsprechenden Menge nicht aufgelöster Bakterien. Dagegen sank der immunisatorische Effekt mit Zunahme der zur Auflösung dienenden Serummenge und blieb bei einer gewissen Höhe der Serumdosis ganz aus, sobald nämlich sämtliche Rezeptoren des Bakterienleibes abgesättigt waren. Es ergab sich nun bei diesen Versuchen, daß zu einer derartigen Absättigung das bis zu 3750000-fache derjenigen Dosis nötig war, die gerade zur vollständigen Auflösung der Bakterien bereits ausreichte.

Diese Experimente erklären auch die bereits besprochene, von Mertens gefundene Tatsache, daß minimale Bakterienquantitäten vom subkutanen Gewebe aus eine viel geringere Antikörperproduktion auslösen als bei intravenöser Injektion. Es liegt das daran, daß im ersteren Falle die Bakterienstoffe auf dem weiteren Wege von der Injektionsstelle bis zu der Bildungsstätte der Antikörper und bei der langsamen Resorption mehr Gelegenheit haben, ihre Rezeptoren mit den normalen Immunstoffen des Körpers zu beladen, wodurch ihre Funktion der Ambozeptorenbildung herabgesetzt wird.

Die Tatsache, daß bakterizide Sera auf die Bakterienendotoxine nicht antitoxisch einwirken, erklärt R. Pfeiffer daraus, daß die toxischen Bakteriensubstanzen so überaus kompliziert gebaut sind, daß namentlich bei passiv immunisierten Tieren die Zahl der Ambozeptoren nicht ausreicht, um alle Gruppen zu besetzen und dadurch die Bakterien ihrer vergiftenden Fähigkeit zu berauben. Auf diese Weise vermögen die Bakterien immer noch genügend toxische Gruppen gegenüber den empfänglichen Organzellen in Aktion treten zu lassen. Beim aktiv immunisierten Tiere soll nach R. Pfeiffer unter Umständen eine Absättigung sämtlicher Gruppen zu erreichen sein, so daß hier dem Serum eine antitoxische Wirkung in der Tat zukäme.

Ueber die Beziehungen zwischen bakterizider und antitoxischer Immunität vgl. auch die Versuche und die Theorie Friedbergers, der als Ursache für den Unterschied, der hier in der Wirkung zutage tritt, die verschiedene Größe des abzubauenden Eiweißkomplexes ansieht (s. S. 321).

Sehr verwickelte Verhältnisse im Rezeptorenapparat, speziell der Typhusbakterien, haben dann noch Friedberger[379], Friedberger & Moreschi[379a] aufgedeckt. Es zeigen sich hier die merkwürdigsten Differenzen bei verschiedenen Stämmen.

Bei seinen Untersuchungen über die Agglutininrezeptoren eines frisch aus dem Stuhl gezüchteten Typhusstammes wurden zuerst von Friedberger Versuche angestellt, die ergaben, daß ein frisch aus dem Stuhl gezüchteter Stamm weniger Rezeptoren enthielt, als ein

*) P. Th. Müller[706] hat analoge Versuche, wie die vorerwähnten Autoren, bezüglich der Agglutinine angestellt.

Laboratoriumsstamm, und zwar nur Rezeptoren für ein bestimmtes Agglutinin.

Weitere Untersuchungen an anderen Stämmen von FRIEDBERGER & MORESCHI ergaben bezüglich der Bakterizidie entsprechende Resultate. (S. oben.)

Die Tatsache, daß mit Immunserum einer Tierspecies gesättigte Bakterien nach PFEIFFER & FRIEDBERGER nicht nur gegenüber derselben, sondern auch gegenüber anderen Tierarten ihres immunisatorischen Effektes beraubt sind, spricht zunächst nicht für eine Verschiedenheit der Bakterienrezeptoren für die einzelnen Tierspecies. Dagegen sind andere Beobachtungen bekannt geworden, die kaum ohne diese Annahme zu erklären sind und sogar Differenzen in den Rezeptoren verschiedener Rassen einer Bakterienspecies vermuten lassen.

Das Bakterienprotoplasma setzt sich offenbar aus einer Reihe von chemisch differenten Körpern zusammen, die als verschiedenartige Rezeptoren an verschiedene Zellgruppen behufs Auslösung der Antikörperproduktion herantreten. Auf diese Weise müssen wir uns den als Reaktion auf die Infektion resp. künstliche Immunisierung gebildeten Ambozeptor als aus einer Reihe von Partialambozeptoren zusammengesetzt denken.

Sobald nun bei einzelnen Rassen einer Bakterienspecies in dem Rezeptorenbestand große Differenzen bestehen, werden Sera gewonnen, die mehr weniger nur die bestimmte zur Auslösung der Immunkörperproduktion verwandte Rasse beeinflussen.

Derartige Verhältnisse werden besonders von WASSERMANN & OSTERTAG [707] beschrieben.

Bis zu einem gewissen Grad fand diese Rassenspezifizität auch WALKER [708] beim Typhus, wo ein durch Immunisierung mit einem bestimmten Stamme hergestelltes Serum besser gegenüber diesem als gegenüber anderen Stämmen schützte.

LIPSTEIN [709] fand bei seinen Untersuchungen über die Immunisierung mit Diphtheriebacillen, „daß der Rezeptorenapparat der Diphtheriebacillen gewisse, bei allen Stämmen wiederzufindende Typen, „Grundrezeptoren“ aufweist, die vielleicht in verschiedenen Proportionen auftreten, während jedem einzelnen Stamm „Partialrezeptoren“ eigentümlich sind, welche qualitative Unterschiede gegenüber anderen Partialrezeptoren zeigen.“

Die Veränderungen, die die Bakterien unter dem Einfluß der Immunstoffe des Organismus in vitro sowohl wie auch in vivo erleiden, bestehen nicht allein in einer Modifikation des Rezeptorenapparates; sie finden ihren sichtbaren Ausdruck vielmehr auch in morphologischen Veränderungen.

Beim Streptococcus hat zuerst BORDET [710] auf das Auftreten von gekapselten Formen unter derartigen Bedingungen hingewiesen. Beim Hühnercholerabacillus haben SILBERBERG & ZELIONY [711] ähnliches gesehen. Beim Milzbrand, wo diese Verhältnisse besonders eingehend studiert sind, hat zuerst DEUTSCH [712, 713] bei der peritonealen Infektion das Auftreten von Kapseln beschrieben und ihren Widerstand gegenüber den Leukocyten beobachtet. LÖHLEIN [714], der diese Versuche bestätigte, fand, daß Kapselbacillen auch im Reagenzglas der Phagocytose nicht unterworfen sind.

METSCHNIKOFF [715], SAWTSCHENKO [716], DEUTSCH, HEIM [717, 718], GRUBER & FUTAKI, LÖHLEIN u. a. sehen in der Kapselbildung des Milzbrandbacillus eine Schutzvorrichtung der Bakterien zur Abwehr der bakterienfeindlichen Kräfte des Organismus, also einen eminent teleologischen Vorgang, während MIGULA [719], BINAGHI [720], BAIL [721, 722], STIENNON [723], PREISZ [725], EISENBERG [726], ASCOLI [724] u. a. sie nur als

morphologischen Ausdruck bestimmter Stoffwechselvorgänge betrachten. Dafür spricht die von Bail zuerst festgestellte Tatsache der Kapselbildung auch im inaktivierten Serum, indem der Milzbrandbacillus gar keine besonderen Abwehrmaßregeln bedarf. Wir sehen nun tatsächlich die Kapselbildung gerade da besonders entstehen, wo günstige Daseinsbedingungen vorliegen, wo also ein Reiz zur Abwehr fehlt. Andererseits ist die einmal gebildete Kapsel wohl imstande, den Bakterien gewissermaßen als Schutzpanzer zu dienen. In diesem Sinne wäre die Kapselbildung nur als die Folge eines Nahrungsreizes aufzufassen.

Bail stellte auch fest, daß diese Kapselbildung nur dem Serum zukommt, nicht den Leukocyten und auch nicht den Organen selbst, die letzteren besitzen sogar die Eigenschaft, die animalisierende Fähigkeit des Serums aufzuheben.

Im Gegensatz zu Fischoeder[727], der die Kapselbildung beim Milzbrand für eine Krankheitserscheinung, nicht für eine Abwehrmaßnahme hält, betont Preisz[728], daß die Fähigkeit Kapseln zu bilden, für die Virulenz des Milzbrandes eine conditio sine qua non sei. Die tödliche Wirkung des Milzbrandes ist nach ihm die Resultante aus drei Faktoren: der Kapselbildungsenergie des Bacillus, der milzbrandfeindlichen Kräfte im Organismus und der die Kapselbildung fördernden Stoffe des Körpers. Im Gegensatz zu Gruber & Futaki, die bei der Milzbrandinfektion der Phagocytose eine wesentliche Rolle zuschreiben und die Meinung vertreten, daß die Kapseln es sind, die die Phagocytose verhindern, vertritt Preisz die Anschauung, daß die Kapseln auch den Bacillus gegen die im Serum gelösten milzbrandfeindlichen Stoffe schützen. Die Wirkung des Milzbrandimmunserums ist nach Preisz keine opsonische, sie beruht vielmehr darauf, daß der tierische Organismus unter dem Einfluß des Milzbrandimmunserums in erhöhter Menge und in stärkerer Konzentration jene anthrakoziden Stoffe erzeugt, welche die avirulenten Bacillen zu vernichten vermögen.

Auch der Typhusbacillus wird, wie zuerst Bail & Rubritius[729] gefunden haben, im Organismus nicht nur serumfest („tierische Bacillen"), sondern auch morphologisch verändert.

Im allgemeinen sind allerdings die morphologischen Veränderungen natürlich beim Typhusbacillus, namentlich da die Kapselbildung ausbleibt*), weniger eklatant als beim Milzbrandbacillus. Doch werden die Bacillen nach Bail & Rubritius im Organismus deutlich dicker und plumper. Bei Ueberzüchtung auf Agar gehen die tierischen Eigenschaften aber sehr schnell wieder verloren. Die Autoren haben auch die Beobachtungen gemacht, daß die Typhusbacillen in einem peritonealen Exsudat vom Meerschweinchen schon 8—12 Stunden nach der Infektion serumfest, noch nicht aber phagocytoseresistent sind. Nach Hektoen[731], [732] sind dagegen längere Zeit in einem Typhuskranken gewachsene Typhusbakterien resistent gegenüber beiden Serumeinwirkungen.

Tsuda[733] konnte zeigen, daß durch vorheriges Wachstum irgendeiner anderen Bakterienart im Serum seine Fähigkeit, neu ein-

*) Kühnemann[730] findet auch beim Typhusbacillus im Serum junger, nicht aber erwachsener Kaninchen eine Kapselbildung: Er sieht in der Kapsel eine Abwehrvorrichtung, die der Bacillus wohl im Serum junger Tiere, nicht aber mehr in dem stärker wirksamen erwachsener zur Ausbildung bringen kann.

geimpfte Typhusbacillen in tierische zu verwandeln, verloren geht. Die Fähigkeit des Serums, tierische Bacillen zu erzeugen, beruht weder auf Komplement- noch auf dem Ambozeptorgehalt. Auch in Exsudaten lassen sich tierische Typhusbacillen erzeugen. Die Gegenwart von Leukocyten wirkt keineswegs fördernd, eher hemmend. Die Gegenwart von Organzellen hat dagegen, im Gegensatz zu dem Verhalten bei Milzbrand, keinen ausgesprochen hemmenden Einfluß.

Bezzola[734] fand im Gegensatz zu Bail, daß die Serumfestigkeit tierischer Bacillen nicht etwa auf Veränderung ihrer vitalen Eigenschaften beruht, sondern darauf, daß die Bakterien, sobald sie in einem schleimigen Exsudat suspendiert sind, aus rein physikalischen Gründen schwerer der Einwirkung von Ambozeptor und Komplement zugängig sind. Er konnte nämlich feststellen, daß schon durch kurzdauernde Einbringung von Bakterien in ein steriles Exsudat bei niederer Temperatur, bei der eine vitale Tätigkeit der Bakterien ausgeschlossen erschien, die Bakterien eine gewisse Serumfestigkeit erlangen.

Dagegen fand allerdings Tsuda[735], daß auch im Serum wachsende Typhusbacillen tierische Eigenschaften annehmen. Sie sind serumfest gegenüber Agglutination und Bakteriolyse, nicht aber gegenüber der Phagocytose.

Aeltere Theorien über die Wirkungsweise bakterizider Sera.

Wir bringen noch nachstehend einige ältere Theorien über die Wirkungsweise bakterizider Sera, die im wesentlichen verlassen, aber wegen der tatsächlichen Ergebnisse doch von Interesse sind.

Die Theorie Buchners.

Die weitgehende Spezifität, die sich in einem tierischen Organismus nicht nur durch Injektion der verschiedensten Bakterien, sondern auch durch Vorbehandlung mit allen möglichen Zellen beinahe jeder beliebigen Tierspecies erzielen läßt, glaubt Buchner nicht durch das Vorhandensein so vieler im Körper präexistierender Molekülgruppen mit spezifischer differenter Affinität für die verschiedenen injizierten Elemente erklären zu können.

Er nimmt vielmehr an, daß eigene spezifische Bestandteile der in den Körper eingeführten Zellen (Bakterien usw.) im Organismus „in eine entgiftete, dem Körper nicht mehr fremdartige Substanz übergeführt werden".

Schon Pfeiffer hat in seiner Arbeit „Ein Grundgesetz der Immunität" darauf hingewiesen, daß das Eintreten der Bakterienauflösung im Reagenzglase im frischen Peritonealexsudat eines Cholerameerschweinchens oder auch in durch Normalserum aktiviertem Immunserum (Bordet) unmöglich mit der Anschauung Buchners in Einklang zu bringen ist, der ja für die Wirkung des Immunserums nur die entgifteten und sonst wenig veränderten Bakterienstoffe verantwortlich macht.

Mit der Buchnerschen Theorie läßt sich auch das Mißverhältnis zwischen den hohen Titerwerten des Serums und den kleinen zu ihrer Erzeugung nötigen Bakterienmengen nicht erklären, worauf zuerst W. Kolle bei seinen Immunisierungsversuchen am Menschen hingewiesen hat. Aus diesen Versuchen ging, wie Kolle hervorhebt (Centralbl. f. Bakt., 1896), hervor, daß ein solches Mißverhältnis zwischen Ursache und Wirkung besteht, daß die Theorie hinfällig wird. Nach Kolles Berechnung genügte die Einverleibung von 2 mg Cholerakultur beim Menschen, um die Produktion von so viel Bakteriolysinen im Blute des Menschen hervorzurufen, daß mehrere Millionen Oesen virulenter Choleravibrionen damit zur Auflösung gebracht werden können.

Zur Begründung führt neuerdings auch R. Pefiffer folgende Berechnung an: „Beim Kaninchen kann man mit Leichtigkeit durch einmalige intravenöse Injektion von $^1/_{250}$ mg abgetöteter Cholerakultur einen Serumtiter von beispielsweise 1 mg erzeugen. Nehmen wir an, daß das Versuchstier etwa 60 g Serum zu liefern vermag, so sind darin 60000 IE. enthalten, welche 60000 $\times$ 2 mg,

d. h. 120 g virulenter Cholerasubstanz zur Auflösung bringen können. Ursache und Wirkung stehen demnach im Verhältnis von $1:{}^{1}/_{250}$. 120000 also wie 1:30 Millionen."

Auch vermag die Buchnersche Theorie nicht befriedigend die von Mertens gefundene Differenz der Antikörperproduktion bei subkutaner und intraperitonealer Injektion zu erklären.

Zu der Zeit endlich, wo bei den zu immunisierenden Tieren die Vergiftungserscheinungen schon vollständig zurückgegangen sind und nach Buchner die Antikörperbildung auf dem Höhepunkt stehen müßte, ist in der Regel von denselben noch nichts nachzuweisen; die Stoffe treten vielmehr erst geraume Zeit später auf.

Vor allem ist die Irrtümlichkeit der Buchnerschen Auffassung durch neuere Untersuchungen von R. Pfeiffer & Friedberger, auf die an anderer Stelle bereits näher eingangen ist, endgültig dargetan. Diese Autoren konnten zeigen, daß auch im Normalserum Antistoffe enthalten sind, die mit denen des Immunserums vollkommen identisch sind, bei Tieren, bei denen eine natürliche Infektion mit dem betreffenden Erreger ohne weiteres auszuschließen ist. Es konnte nämlich durch die betreffenden Untersuchungen dargetan werden, daß die Antikörper des normalen Ziegenserums identisch sind mit denen der gegen Cholera immunisierten Ziegen.

Theorie, die Bakteriolyse auf Endofermente der Bakterien zurückzuführen.

Emmerich & Löw[736, 737] nehmen in Uebereinstimmung mit R. Pfeiffer an, daß die Wirkung der Antikörper eine enzymatische ist, jedoch sollen die betreffenden Enzyme nicht im Körper gebildet werden, sondern von den Bakterien selbst stammen.

Die Autoren gingen dabei von der Beobachtung aus, daß in alten Kulturen ähnliche Umwandlungen der Bakterien zustande kommen, wie sie im Peritoneum immuner Meerschweinchen beobachtet werden, welcher Erscheinung in Flüssigkeitskulturen eine der Agglutination analoge Zusammenballung vorausgehen soll.

Diese Veränderungen, die seither als Folge von Nahrungsmangel gedeutet wurden, beruhen nach Emmerich & Löw auf der Ausscheidung von Enzymen durch die Bakterien selbst. Sie bezeichneten dieselben, da sie die Nukleoproteide der Bakterien zur Auflösung bringen konnten, als „Nukleasen" und belegen die verschiedenen Nukleasen mit den Namen der betreffenden Bakterienart, z. B. „Pyocyanase" von Pyocyaneusbacillus, „Diphtherase" von Diphtheriebacillus usw. Die von ihnen aus alten Bouillonkulturen hergestellte*) wirksame Pyocyanase ist hitzebeständig und verträgt zweistündiges Verweilen in strömendem Dampf. Dadurch unterscheidet sie sich sicher von einem eventuellen Proteinferment, das höchstens eine $^{1}/_{2}$-stündige Erhitzung erträgt.

Ebenso sind diese Fermente nach Emmerich & Löw von den Conradischen bei der Autolyse freiwerdenden bakteriziden Körpern verschieden, die, im Gegensatz zu ihren Nukleasen durch Alkohol fällbar und leicht dialysierbar, trypsinartige Fermente sind.

In vitro kann den Nukleasen eine starke bakterizide Fähigkeit zukommen, besonders bei Sauerstoffabschluß (unter diesen Bedingungen sollen auch Cholera- und Typhusimmunserum nach Emmerich & Löw, Müller[740], sowie Walker[741] in vitro eine stärkere bakterienvernichtende Fähigkeit entfalten).

Je nachdem die Nuklease spezifisch auf die sie erzeugende Bakterienart wirkt, oder auch auf andere wie das die Pyocyanase tut, bezeichnen Emmerich & Löw sie als „homöoforme" oder „heteroforme Nukleasen". Die Pyocyanase soll speziell nicht nur gegen Pyocyaneus, sondern auch gegenüber Milzbrand, Typhus, Cholera, Diphtherie, ja selbst gegenüber Diphtherietoxin ihre Wirksamkeit entfalten**).

---

*) Zur Gewinnung der Pyocyanase werden die längere Zeit in der Nährflüssigkeit (Pepton 5,0, Asparagin 2,0, Dikaliumphosphat 2,0, Natriumacetat 5,0, Chlornatrium 2,0, Magnesiumsulfat 0,1 ad 1000) gezüchteten Pyocyaneuskulturen neutralisiert und durch Berkefeldfilter filtriert; das Filtrat wird im Vakuum bei 25 bis 30° auf $^{1}/_{10}$ Vol. eingedampft und dann der Dialyse unterworfen.

**) Woodhead & Wood[738] haben bereits gezeigt, daß abgetötete Pyocyaneuskulturen Kaninchen Schutz gegenüber Milzbrandinfektion verleihen. Charrin & Guignard[737] erzielten den gleichen Effekt mit Filtraten von Pyocyaneuskulturen.

Im Tierkörper verbindet sich die labile Pyocyanase mit Eiweiß zu einem hochwirksamen „Pyocyaneus-Immunproteidin".

Der Mangel einer Spezifität, der der Pyocyanase (wenn auch nach EMMERICH & LÖW im Gegensatz zu den meisten anderen Nukleasen) zukommt, spricht gegen die Identität dieser Stoffe mit den spezifischen Antikörpern.

Die auffallenden Beobachtungen über die bakterizide Wirkung der Nuklease in vitro wurden von DIETRICH[742] und KLIMOFF[743] in wesentlichen Punkten nicht bestätigt.

KLIMOFF bestreitet die Fermentnatur der Nuklease wegen ihrer Hitzebeständigkeit und leugnet die Bakteriolyse und Agglutination durch diesen Körper. Ebenso bestreitet DIETRICH den Fermentcharakter und führt die Abtötung der Bakterien auf osmotische Störungen zurück.

In einer Entgegnung auf diese Arbeiten halten EMMERICH[744], LÖW und KORSCHUN an ihrer ursprünglichen Auffassung fest und bringen neue Tatsachen, die dafür sprechen sollen, daß die Cyanasen echte Fermente sind.

DIETRICH[745] erkennt in einer Entgegnung die Beweise der vorerwähnten Autoren bezüglich des Fermentcharakters der Cyanasen nicht an, was EMMERICH[746] zu einer erneuten Erwiderung veranlaßt.

VAERST[747] bestätigte die Angabe von EMMERICH & LÖW, daß die Pyocyanase imstande ist, Milzbrandbacillen aufzulösen. In Tierversuchen über den Einfluß der Pyocyanase auf die Milzbrandinfektion gelang es ihm mit wässeriger Pyocyanaselösung oder mit Pyocyanase-Milzextrakt nicht, Kaninchen gegen Anthrax zu immunisieren, wohl aber mit Pyocyanaseserum. Bei gleichzeitiger Injektion von Pyocyanase und Milzbrand gelang es, die Entwickelung der Bakterien im Tierkörper zu hemmen.

TAVERNARI[748] sah eine deutliche günstige Beeinflussung der Milzbrandinfektion des Kaninchens durch Pyocyanase; das gleiche Resultat erhielten THÖNESSEN[749] bei Kaninchen und Schafen.

GREITHER[750] gelang in einer Versuchsreihe die Immunisierung von drei Schweinen gegen Swineplague, nicht aber gegen Hogcholera mit Immunproteidin.

EMMERICH & TROMMSDORFF vermochten durch Pyocyanaseimmunproteidin in 31 Proz. Kaninchen von einer Streptokokkeninfektion zu heilen; in 46 Proz. den Infektionsverlauf durch die Behandlung in die Länge zu ziehen.

(Späterhin sind eine Reihe klinischer Arbeiten entstanden, die sich über die Pyocyanase nicht ungünstig äußern.)

Denen EMMERICH & LÖWS verwandte Anschauungen über die Bakteriolyse vertritt DANYSZ[751] auf Grund seiner Untersuchungen über die Milzbrandauflösung im Rattenserum. Er beobachtete, daß man — analog, wie es bereits vorher SAWTSCHENKO ausgeführt hatte — den Milzbrandbacillus und selbst das sehr empfindliche Vaccin I an Rattenserum allmählich gewöhnen könne. Derartige Bacillen zeigen im Gegensatz zu frischen eine Schleimhülle, die befähigt sein soll, die feindlichen Substanzen des Serums zu neutralisieren. Diese letzteren sind keine bakteriolytischen Fermente, sondern eine den Antisepticis analoge Substanz, die nur die Assimilation und das Wachstum der Milzbrandbacillen aufhebt. Damit aber wird die Bildung und auflösende Wirksamkeit eines bakteriolytischen Fermentes in den Bacillen selbst begünstigt.

Die gleichen reaktiven Veränderungen wie unter dem Einfluß eines schädigenden Serums (Hüllenbildung) zeigen die Milzbrandbacillen nach DANYSZ auch, wenn sie der Einwirkung von Arsenlösungen von gewisser Konzentration ausgesetzt werden.

Theorie, die bakterizide Wirkung des Blutserums auf Erhöhung der Alkaleszenz zurückzuführen.

In den frühesten Stadien der Immunitätsforschung glaubte man die bakterienvernichtenden Fähigkeiten auf gewisse chemische Eigenschaften zurückführen zu können.

Die ersten hierher gehörenden Beobachtungen rühren von BEHRING[752] her, der die Unempfänglichkeit weißer Ratten für Milzbrand aus der hohen Alkaleszenz ihres Blutes herleitete und durch entsprechende Aenderung der Reaktion die Tiere empfänglich zu machen vermochte.

Weitere Untersuchungen von PANE[753], sowie von ZAGARI[754] & INNOCENTE[755] bestätigten einen gewissen Zusammenhang der Alkalität des Blutes mit der natürlichen Resistenz der Tiere.

Versuche über den Zusammenhang zwischen Immunität und Alkaleszenz des Blutes wurden sodann in größerem Maßstabe von v. Fodor[756] angestellt. Er zeigte, daß bei der künstlichen Infektion des Kaninchens gegen Milzbrand zunächst der Alkaligehalt des Blutes steigt, aber im weiteren Verlaufe bei letal endigender Infektion stark abnimmt. Bei immunisierten Tieren fand er den Alkaligehalt des Blutes vermehrt, ebenso war er sehr hoch bei resistenten Tieren.

Künstliche Steigerung der Alkaleszenz erhöht nach v. Fodor[757] die Resistenz des Organismus.

Zu gleichen Resultaten, wie v. Fodor[758], kamen Calabrese[759], sowie Pöhl[760], Löwit[761], während Chor[762] sowie Behring[763] die Richtigkeit von v. Fodors[764] Resultaten bestritten.

v. Fodor hat dann in Gemeinschaft mit Riegler[765] die Untersuchungen weiter fortgesetzt und fand, daß längeres Stehen sowie Erwärmen des Serums die Alkalität vermindern. Die durch Immunisierung mit Anthraxvaccin erhöhte Alkalität sinkt nach v. Fodor bei der nachherigen Impfung derartiger Tiere nur minimal. Injektion von Diphtherietoxin hat eine Abnahme der Alkalität zur Folge. Die Injektion von Diphtherieantitoxin erhöht sie.

Gamaleïa[766] und gleichfalls Behring[767] machten auch den Gehalt des Blutserums an Kohlensäure verantwortlich für seine bakterienvernichtende Fähigkeit.

Desgleichen hat Christmas[768] angenommen, daß die Inaktivierung des Serums durch Vertreiben der an und für sich bakterizid wirkenden Kohlensäure des Blutes zustande komme.

Emmerich[769], Tsuboi[770], Steinmetz[771] & Löw[772] zeigten, daß inaktives Hundeserum durch Zusatz von Natronlauge wieder aktiviert wird und nachher bei erneuter Erwärmung aktiv bleibt. Auch sie führen die Inaktivierung des Serums nicht auf die Temperaturerhöhung zurück, sondern auf die aus den Bikarbonaten beim Erhitzen freiwerdende Säure (Kohlensäure), die das Alkali vom Eiweiß abspaltet und letzteres dadurch inaktiviert.

In dem erhitzten, mit Alkali behandelten und regenerierten Serum sollen aber die Bikarbonate in Monokarbonate umgewandelt sein; es kann also keine Kohlensäure freiwerden, um die Alkalialbuminate zu zerlegen.

Buchner[773] führte die Verminderung der Keime im inaktiven Serum nach Alkalisierung in den Versuchen von Emmerich, Tsuboi, Steinmetz & Löw auf die bei ihren Versuchen angewandte lang dauernde Dialysierung des Serums zurück, die eine Verminderung der Nährstoffe des Serums für Mikroorganismen bedingt.

In einer zweiten Arbeit suchten Emmerich[774] & Tsuboi[775] diese Einwände Buchners zu widerlegen.

Die Tatsache, daß durch Durchleitung von CO_2 durch das Blut das Serum an Alkali reicher wird, veranlaßte Hamburger[776] die Unterschiede in der bakteriziden Wirkung zwischen gewöhnlichem Blut und mit CO_2 behandeltem sowie zwischen Venen- und Arterienblut, zu untersuchen. Er fand in der Tat eine erhöhte bakterizide Wirkung des mit Kohlensäure behandelten und des Venenblutes. Die Wirkung des an CO_2 reicheren Stauungsblutes war noch gegenüber der des venösen erhöht. Ebenso war in der Stauungslymphe die bakterienvernichtende Eigenschaft vermehrt. Hamburger[777] führt diese Tatsachen auf die Eigenschaft des CO_2 zurück, aus den Albuminaten diffundibles Alkali frei zu machen. Spronck[778] bestreitet die Richtigkeit der Hamburgerschen[779] Versuche.

Wenn nach den Untersuchungen der genannten Autoren der Alkaligehalt des Blutes eine gewisse Beziehung zur bakterienvernichtenden Fähigkeit besitzt, so kann der Einfluß der Reaktion doch nur ein ganz sekundärer sein und vor allem bei der künstlichen oder erworbenen spezifischen Immunität gegenüber Bakterien nur eine untergeordnete Rolle spielen.

So ist denn diese Theorie, einfache chemische Zustände der Körperflüssigkeiten für die Keimvernichtung verantwortlich zu machen, längst gänzlich aufgegeben. Anders verhält es sich mit einer Theorie, die die Keimvernichtung auf gewisse physikalische Verhältnisse zurückführt.

Theorie, nach der die Wirkung des Blutserums auf osmotische Schwankungen und Ernährungsstörungen der Bakterien zurückzuführen ist (Assimilationstheorie Baumgartens).

Baumgarten[780] und seine Schüler Jetter[784], Walz[785], Dietrich, Finkh[786], ferner Fischer[788] und Focker[789], ursprünglich auch Metschnikoff[790], Christmas[791], Székely[792], nehmen an, daß die Keimverminderung im normalen wie im

Immunserum beim Reagenzglasversuch durch eine kombinierte schädigende Wirkung von osmotischen Schwankungen und „Assimilationsstörungen“ zustande kommt, welchen letzteren BAUMGARTEN [781] früher namentlich zufolge seiner ersten Arbeiten und deren von PETRUSCHKY [793], FAHRENHOLZ [794], CZAPLEWSKI [795] die wesentlichste Rolle dabei zuerteilte.

Die Bakterienvernichtung im Organismus eines Immuntieres erklärt BAUMGARTEN [782] dadurch, daß hier die betreffende Bakterienspecies keine günstigen Ernährungsbedingungen findet.

Zusatz von Nährstoffen zum Serum hebt nach BAUMGARTEN [783], WALZ, FINKH [787] u. a. die Bakterizidie in vitro auf.

Alsdann hat man in erster Linie die durch übliche Versuchsanordnung bedingte Uebertragung vom Nährmedium auf das „bakterizid“ wirkende Serum und umgekehrt für die Keimvernichtung verantwortlich gemacht. Diese soll wegen der Differenz in dem Salzgehalt der verschiedenen Substrate plasmolytische Störungen hervorrufen und die so geschädigten Bakterien sollen leichter ungünstigen Ernährungsbedingungen erliegen.

Schon im Jahre 1881 hat übrigens ROSER [796] die Bedeutung des Salzgehaltes des Blutes für die Immunität betont.

KLIMOFF kommt jedoch bezüglich der vermeintlichen Assimilationsstörungen in seinen Versuchen zu ganz anderm Resultat. Zusatz von Pepton zum nicht erhitzten Serum begünstigt zwar die Bakterienentwickelung, vermag aber die Bakterizidie keineswegs völlig aufzuheben und die begünstigende Wirkung des Peptons macht sich in gleicher Weise gegenüber erhitztem wie frischem Serum geltend.

Was dann die osmotischen Schädigungen anlangt, so sind diese in jüngster Zeit besonders eingehend von FISCHER, namentlich am Typhusbacillus, der für derartige Versuche ein ausgezeichnetes Objekt darstellt, untersucht worden.

FISCHER unterscheidet unter den Bakterien, die wie alle Pflanzenzellen ein osmotisches System darstellen, zwei Gruppen bezüglich der Permeabilität für Kochsalz. Die für die 1—2-proz. Kochsalzlösung wenig permeablen Bakterien zeigen in anisotonischer Lösung das Bild der Plasmolyse (Cholera und Typhus), d. h. eine Abtrennung des Protoplasmas von der Zellmembran. Bei den nicht plasmolysierbaren für Kochsalz permeablen Arten (z. B. Milzbrand) kommt es zur Plasmoptyse, d. h. zum Austritt des Protoplasmas nach Platzen der Zellmembran und damit zum Zellentod.

Die Plasmolyse kann beim Steigen des Innendruckes zurückgehen, führt aber gewöhnlich gleichfalls im späteren Stadium zu einer Erhöhung des Innendruckes und zur Plasmoptyse.

Auch nach FISCHER befördern ungünstige Ernährungsbedingungen den Eintritt der eben geschilderten Erscheinungen.

Schon DENYS [797] und KAISIN [798] konnten die Bedenken, die bei BAUMGARTEN & FISCHER der Wechsel des Nährbodens gegen die Alexintheorie hervorrief, dadurch beseitigen, daß sie als Nährboden zur Vorzüchtung Blut benutzten und bei den bakteriziden Versuchen in Blut der gleichen Tierart (Hund) übertrugen. Die auf die anfängliche Bakterizidie in vitro folgende Vermehrung der Keime erklären sie nicht wie die Anhänger der Assimilationstheorie als durch Gewöhnung der Bakterien an das Serum bedingt, sondern als Folge des allmählichen Aufbrauchs der Alexine; Zusatz frischen Serums veranlaßt erneute Bakterienvernichtung. — In noch einwandfreierer Weise sind Versuche, in denen die vermeintlichen schädigenden Einflüsse der osmotischen Schwankungen usw. vermieden wurden, im BUCHNERschen Institut von TROMMSDORFF sowie HEGELER [799] angestellt worden. TROMMSDORFF hatte Choleravibrionen und Typhusbakterien, ehe er sie der bakteriziden Wirkung eines wirksamen Kaninchenserums aussetzte, teils in inaktiviertem Serum, teils auf gewöhnlichen Nährböden vorgezüchtet. Die bakterizide Kraft des Serums war beiden Rassen von Bakterien gegenüber die gleiche. HEGELER hat, um jede plasmolytische Wirkung und den Nahrungsmangel zu vermeiden, umgekehrt aktives Serum zu den in inaktivem gezüchteten Bakterienkulturen zugesetzt und auch hier Bakteriolyse beobachtet. PETTERSON [800] gestaltete die Versuchsanordnung noch subtiler, indem er die Gelatinekulturen der betreffenden Bakterien mit dem auf seine bakterizide Fähigkeit zu prüfenden Immunserum im Reagenzglas überschichtete und in Kontrollversuchen statt des Serums Kochsalzlösung oder inaktiviertes Serum benutzte. Nur in den mit Serum beschickten Röhrchen treten entsprechend der Wirksamkeit des Serums tiefreichende Entwickelungshemmungen der Bakterien ein, die bei den Kontrollröhrchen mit Kochsalz fehlten. Agar läßt die bakteriziden Stoffe nicht durchdringen. In diesen Versuchsanordnungen war sowohl

eine osmotische Druckschwankung wie ein Nahrungsmangel genügend ausgeschlossen.

Die Untersuchungen von Fischer wurden dann noch eingehend widerlegt durch v. Lingelsheim[801]. In zahlreichen Untersuchungen mit Milzbrand und Typhusbacillen zeigte er, daß die bakterizide Wirkung des Serums sich durch osmotische Druckschwankungen nicht erklären lasse, da die Differenz im osmotischen Druck, wie sie bei der Uebertragung von Agar zu Serum und vom Serum zurück zum Agar vorhanden ist, viel zu gering ist, als daß auch bei schwierigen Assimilationsverhältnissen eine erhebliche Keimabnahme stattfinden kann. Es ergab sich vielmehr, daß auch ein viel höherer osmotischer Druck noch ohne Einfluß war.

Auch Buchner konnte schon zeigen, daß Bakterien bei sonst günstigem Nährstoffgehalt der Lösung selbst in 40-proz. Rohrzuckerlösung gut gedeihen.

Buchner hat ferner darauf hingewiesen, daß die Inaktivierung des Serums durch kurz dauernde Erwärmung auf 55° sich nur schwer mit den Baumgartenschen Theorien vereinigen läßt. Zur Erklärung muß Baumgarten die sehr gezwungene Annahme machen, daß durch die Inaktivierung die Eiweißkörper des Serums verändert und für die Bakterien besser verdaulich gemacht würden, wodurch die Schädigung infolge der Plasmolyse ausbleiben soll. Diese Annahme erklärt aber nicht, wie Buchner mit Recht hervorhebt, die Abnahme der Bakterizidie bei längerer Aufbewahrung im Eisschrank oder unter Einwirkung des Sonnenlichtes usw.

Die Baumgartensche Theorie läßt bei einer großen Anzahl von Tatsachen auf dem Gebiet der Immunität gänzlich im Stich. Ist sie schon keineswegs imstande, die Wirkung der normalen bakteriziden Wirkung zu erklären, so versagt sie noch mehr bei allen den Tatsachen, die das Stadium der spezifischen Immunität zutage gefördert hat. Sie erklärt weder die Wirkung der Immunsera nach der Seite der Spezifität noch nach der Intensität der Wirkung. Sie gibt keine befriedigende Aufklärung über die Tatsache der Inaktivierung und über die Wirkung der Antikomplemente und Antiambozeptoren, die Komplementablenkung usw.

Vor allem aber vermag die Baumgartensche Assimilationstheorie nicht die Vorgänge bei der Hämolyse zu erklären.

Wegen der rein äußerlichen Uebereinstimmung der Erythrocytenauflösung im heterologen Serum mit den Veränderungen, die Blutkörperchen in anisotonischen Kochsalzlösungen erfahren, hielt Baumgarten ursprünglich die Hämolyse im Immunserum für eine Folge der Anisotonie dieser Flüssigkeit gegenüber den suspendierten Elementen. Die Inaktivierung des Serums durch Erwärmen auf 55° führte er auf eine Aufhebung der Anistonie zurück. Da sich jedoch physikalisch nach Baumgartens und seiner Schüler eigenen Untersuchungen kein Unterschied im Verhalten aktiven und inaktivierten Serums nachweisen läßt, so hat Baumgarten seine ursprüngliche Auffassung modifiziert; er erkennt die Existenz spezifischer Ambozeptoren im Sinne Ehrlichs nunmehr an, hält sie aber nicht für einen fermentartigen Stoff, sondern schreibt ihnen nur die Funktion zu, die Resistenz des Blutkörperchenstromas herabzusetzen und dessen Permeabilität zu ändern, eine Ansicht die nach den Untersuchungen von Friedberger, Rössle, Leuchs nicht zutrifft (s. S. 361).

Literatur *).

Zusammenfassende Darstellungen über die bakteriziden Sera und verwandte Materien finden sich bei:

Ascoli, Grundriß der Serologie, Wien, J. Safar, 1912.

Arrhenius, Immunochemie, Leipzig, akad. Verlagsges., 1907.

Aschoff, Ehrlichs Seitenkettentheorie und ihre Anwendung auf die künstlichen Immunisierungsprozesse. Zeitschr. f. allgem. Physiol., herausg. von Verworn, Bd. 1, 1901. Zugleich als Sonderausgabe bei Fischer, Jena.

v. Behring, Einführung in die Lehre von der Bekämpfung der Infektionskrankheiten, Berlin, A. Hirschwald, 1912.

Deutsch & Feistmantel, „Die Impfstoffe und Sera“, Leipzig, Thieme, 1903.

Dieudonné, Immunität, Schutzimpfung und Serumtherapie, Leipzig, Barth, 7. Aufl.

*) Bei Citaten aus dem Centralbl. f. Bakt. ist stets Abt. I, (Originalteil) gemeint, sofern nicht ausdrücklich anders erwähnt.

v. Dungern, Die Antikörper, Jena, Fischer, 1903.
Ehrlich, Gesammelte Arbeiten, Berlin, A. Hirschwald, 1904.
Jakoby, Immunität und Disposition, Wiesbaden, J. F. Bergmann, 1906.
Kraus-Levaditi, Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung, Jena 1908 09.
Kruse, Allg. Mikrobiologie, Bd. 1, Leipzig, F. C. W. Vogel, 1910.
Levaditi, E., La nutrition dans ses rapports avec l'immunité, Paris 1904.
Marx, E., Diagnostik, Serumtherapie und Prophylaxe der Infektionskrankheiten. 2. Aufl., Berlin 1907.
Metschnikoff, „Immunität" Handb. d. Hyg., herausg. von Weyl, Bd. 9, 1897, Jena, Fischer.
— „L'immunité dans les maladies infectieuses", Paris, Masson, 1901. Deutsche Ausgabe: „Immunität bei Infektionskrankheiten", übers. von Jul. Meyer, Jena, Fischer, 1902.
Much, H., Die Immunitätswissenschaft, Würzburg 1911.
Müller, P. Th., Vorlesungen über Infektion und Immunität, 3. Aufl. Jena, Gustav Fischer, 1910.
Ricketts, H. T., Infection, Immunity and Serumtherapy, Chicago 1906.
Römer, P., Die Ehrlichsche Seitenkettentheorie, Wien, Alfr. Hödler, 1904.
Rössle, Fortschritte der Cytotoxinforschung. Ergebnisse von Lubarsch-Ostertag, Jahrg. 11, Wiesbaden 1907.
Sachs, „Die Hämolysine". Ergebnisse von Lubarsch-Ostertag, Bd. 7, 1902. Zugleich als Sonderausgabe bei Bergmann, Wiesbaden.
— „Die Hämolysine und die cytotoxischen Sera" ibid., 11. Jahrg., 1907.
Sauerbeck, ebd.
Sobernheim, „Die Lehre von der Immunität". Handb. d. allg. Pathol. von Krehl-Marchand, Leipzig, S. Hirzel, 1908.
Vaughan, V. C., & Novy, F. G., Cellular toxins or the chemical actors in the causation of disease, Philadelphia and New York 1902.
Wassermann, A., Hämolysine, Cytotoxine und Präzipitine. Volkmanns Sammlung klin. Vorträge, 1902, Serie 12, Nr. 331.

1. Bail, Arch. f. Hyg., Bd. 42, S. 307, 1902.
2. Bordet, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Ther., Ref., Bd. 1, S. 1, 1909.
3. Nicolle, Compt. rend. de la Soc. de Biol., T. 73, S. 77, 1907.
4. Levaditi & Iman, ebd., T. 52, S. 1, 1907.
5. Neufeld & Hüne, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 25, 1907.
6. Bezzola, Centralbl. f. Bakt., Bd. 50, S. 541, 1909.
7. Stern & Korte, Berl. klin. Wochenschr., 1904, Nr. 9, S. 213.
8. Gruber, Münch. med. Wochenschr., 1901.
9. Morgenroth & Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1902, Nr. 30.
10. Shibayama, Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, 1903.
11. Landsteiner, ebd., Bd. 45, S. 247, 1909.
12. Eisenberg & Volk, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, 196, S. 1902.
13. Kraus, Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, S. 488, 1903.
14. Müller, P. Th., Arch. f. Hyg., Bd. 51, S. 365, 1904.
15. Denys & Leclef, La cellule, T. 11, 1895.
16. Traube & Gescheidel, Jahresber. d. Schles. Ges. f. vaterl. Kultur, 1874.
17. Grohmann, Inaug.-Diss. Dorpat, 1884.
18. v. Fodor, Deutsche med. Wochenschr., 1886, S. 617; ebd., 1887, S. 745; Arch. f. Hyg., Bd. 4, S. 129, 1886.
19. Wyssokowitsch, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 1, S. 3, 1886.
20. Flügge, ebd., Bd. 4, S. 208, 1888.
21. Nuttall, ebd., S. 353, 1888.
22. Olga Metschnikoff, cit. nach Metschnikoff, Immunität, Jena 1902, S. 155 Anmerk.
23. Buchner, H., Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 5, S. 817; Bd. 6, S. 1, 1889.
24. — Arch. f. Hyg., Bd. 10, S. 727, 1891.
25. — Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 7, S. 65, 1890.
26. — ebd., Bd. 10, S. 727, 1891.
27. — Arch. f. Hyg., Bd. 17, S. 112, 1893.
28. Bail, ebd., Bd. 35, S. 284, 1899.
29. — Centralbl. f. Bakt., Bd. 27, S. 10, 1900.
30. Hegeler, Arch. f. Hyg., Bd. 40, S. 375, 1901.
31. Kraus & Clairmont, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 34, S. 1, 1900.
32. Rywosch, M., Centralbl. f. Bakt., Bd. 44, S. 468, 1907.

33. Sommerfeld, ebd., Bd. 37, S. 716, **1904**.
34. Kolle, Klin. Jahrb., **1904**.
35. v. Behring, Therap. d. Gegenwart, Bd. 45, **1904**.
36. Moro, Jahrb. f. Kinderheilk., N. Folge, Bd. 5, S. 396.
37. Focker, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 9, S. 41, **1890**.
38. Laschtschenko, ebd., Bd. 64, S. 419, **1909**.
39. Moro, Ueber das Verhalten hämolytischer Serumstoffe bei gesunden und kranken Kindern, Wiesbaden, J. F. Bergmann, **1908**.
40. Kaumheimer, Centralbl. f. Bakt., Bd. 49, S. 208, **1909**.
41. Heimann, Zeitschr. f. exper. Path. u. Ther., Bd. 5, S. 50. **1908**.
42. Ehrlich & Brieger, Deutsche med. Wochenschr., **1892**, S. 393.
43. — — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 13, S. 336, **1893**.
44. Halban & Landsteiner, Münch. med. Wochenschr., **1902**, S. 473.
45. Trommsdorff, Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, S. 439, **1902**.
46. Petterson, ebd., Bd. 33, S. 613, **1903**.
47. Löwit, ebd., Bd. 43, S. 257, **1907**.
48. Buchner, Münch. med. Wochenschr., **1899**, Nr. 39/40.
49. Hahn & Geret, Zeitschr. f. Biol., Bd. 40, S. 117, **1900**.
50. Daremberg, Arch. de méd. expér., T. 3, p. 720, **1891**.
51. Behring, Centralbl. f. klin. Med., **1888**.
52. — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 6, S. 117, 467, **1889**.
53. Nissen, ebd., S. 487.
54. Behring & Nissen, ebd., Bd. 8, S. 412, **1890**
55. Metschnikoff, Ann. Pasteur, T. 3, p. 298, **1889**.
56. Lubarsch, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 6, S. 481, 529, **1889**.
57. — Untersuchungen über die Ursache der angeborenen und erworbenen Immunität. Berlin, Hirschwald, **1891**.
58. Bail & Petterson, Centralbl, f. Bakt., Bd. 34, S. 167, 445, 540, **1903**.
59. Hocke, ebd., Bd. 34, S. 692, **1903**.
60. Bail, Arch. f. Hyg., Bd. 52, S. 272, **1905**.
61. Gruber & Futaki, Münch. med. Wochenschr., **1907**, S. 249.
62. Székely & Szanna, Centralbl. f. Bakt., Bd. 12, S. 139, **1892**.
63. Lubarsch, „Zur Lehre von den Geschwülsten und Infektionskrankheiten", Wiesbaden, Bergmann, **1899**, S. 218.
64. Gatti, Rif. med., **1893**.
65. Bastin, La Cellule, T. 8, p. 383, **1892**.
66. Denys & Kaisin, ibid., T. 9, **1893**.
67. Denys & Havet, ibid., T. 10. p. 7, **1894**.
68. Bail, Arch. f. Hyg., Bd. 35, S. 284, **1899**.
69. Conradi, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 34, S. 185, **1900**.
70. Székely, zit. nach Baumgartens Jahresber., Bd. 12, S. 742, **1896**.
71. Bonaduce, Zieglers Beitr., Bd. 12, S. 353, **1893**.
72. Schneider, Arch. f. Hyg., Bd. 28, S. 93, **1897**.
73. Baumgarten, Jahresber., Bd. 14, S. 781, Anm., **1899**.
74. — Zieglers Beiträge, Bd. 12, **1892**.
75. Wilde, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37, S. 476, **1901**.
76. — „Ueber die Beeinflussung der Alexinwirkung durch Absorption". Habilitationsschr. München.
77. v. Dungern, Münch. med. Wochenschr., **1900**, S. 677.
78. Hoke, Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, **1903**.
79. Ehrlich & Sachs, Berl. klin. Wochenschr., **1902**, Nr. 14/15, S. 297, 335.
80. Conradi, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 38, S. 41, **1901**.
81. Stern, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 18, S. 46, **1891**.
82. Prudden, Med. record, **1890**.
83. Rovighi, Rif. med., **1890**.
84. Pansini, Zieglers Beitr., Bd. 12, S. 372, **1893**.
85. Silvestrini, zit. Baumgart. Jahresber., S. 742, **1896**.
86. Hahn, Berl. klin. Wochenschr., **1901**.
87. Trommsdorff, Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, S. 439, **1902**.
88. Löwenstein, Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 76, S. 93, **1909**.
89. Kruse, Ziegl. Beitr., Bd. 12, S. 333, **1893**.
90. Buchner, Münch. med. Wochenschr., **1894**, S. 469 u. Verhandl. d. 8. internat. Hygienekongresses in Budapest, ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 16, S. 737, **1894**.
91. Hankin, Centralbl. f. Bakt., Bd. 12, S. 777 u. 809, **1892**.
92. — ebd., Bd. 14, S. 852, **1893**.
93. Kanthak & Harty, Proc. of the Roy. Soc. London, Vol. 52, p. 267, **1892**.

94. Kanthak & Harty, Philos. Transact., Vol. 158, p. 279, **1894**.
95. Vaughan & Mc. Clintock, Med. News, **1893**, ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 15, S. 520, **1894**.
96. Kossel, A., Arch. f. Physiol., S. 164, **1893**.
97. van de Velde, Centralbl. f. Bakt., Bd. 23, S. 692, **1898**.
98. Bail, Arch. f. Hyg., Bd. 30, S. 348, **1894**.
99. Jakob, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 30, H. 5, 6, **1896**.
100. Schattenfroh, Arch. f. Hyg., Bd. 31, S. 1, **1897**.
101. — ebd., Bd. 35, S. 135, **1899**.
102. — Münch. med. Wochenschr., **1898**, Nr. 12, 30.
103. Löwit, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 23, S. 1025, **1898**.
104. Bordet, Ann. Pasteur, T. 9, p. 462, **1895**.
105. Everart, Demors, Massard, Ann. Pasteur, **1893**, p. 165.
106. Werigo, ibid., **1894**, p. 1.
107. Buchner, Münch. med. Wochenschr. **1894**, S. 469.
108. — ebd., S. 718.
109. Hahn, Arch. f. Hyg., Bd. 25, S. 105, **1895**.
109[a]. — ebd., Bd. 28, S. 312, **1896**, und Berl. klin. Wochenschr., **1896**, S. 864.
110. Laschtschenko, Arch. f. Hyg., Bd, 37, S. 296, **1900**.
111. Trommsdorff, ebd., S. 296.
112. — ebd., Bd. 40, S. 382, **1901**.
113. Schuster, Inaug.-Diss. München **1894**.
114. Nakanishi, Münch. med. Wochenschr., **1900**, S. 187.
115. Metschnikoff, Ann. Pasteur, T. 7, p. 403, 562, **1893**.
116. — ibid., T. 8, p. 257, **1894**.
117. — ibid., p. 529.
118. — ibid., p. 706.
119. — ibid., T. 7, p. 433, **1895**. Ferner finden sich zusammenfassende Darstellungen seiner Lehre in Lubarsch-Ostertag, Ergebnisse, Bd. 1, **1894**; Weyls Handbuch der Hyg., Bd. 9, **1897**; L'Immunité dans les maladies infectieuses, Paris **1901**.
120. Gengou, Ann. Pasteur, T. 15, p. 68, **1901**.
121. Lilienfeld, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 20, **1895**.
122. Sawtschenko, Ann. Pasteur, T. 11, p. 865, **1897**.
123. Gengou, ibid., T. 15, p. 232, **1901**.
124. Bordet & Gengou, ibid., p. 129.
125. Petterson, Arch. f. Hyg., Bd. 43, S. 49, **1902**.
126. v. Dungern, „Die Antikörper", Jena, Fischer, **1902**, S. 46.
127. Hewlett, Arch. f. exper. Pathol., Bd. 49, S. 307, **1903**.
128. Lambotte, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 34, S. 453, **1903**.
129. Falloise, Bull. Acad. R. Belg., **1903**.
130. — ibid., **1905**.
131. Falloise & Dubois, Arch. Intern. de Phys., T. 2, **1904**.
132. Schneider, Arch. f. Hyg., Bd. 55, **1908**.
133. Much, Jahrb. Hamb. Staatskr., Bd. 12, **1907**, S. 169. Münch. med. Wochenschr., **1908**, S. 572, **1909**, S. 2662.
134. Dold, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 36, S. 419, **1910**.
135. Rehns, Compt. rend. soc. biol., **1901**, p. 333.
136. Ascoli, Deutsche med. Wochenschr., **1902**, Nr. 41.
137. Wolff, Berl. klin. Wochenschr., **1903**, Nr. 17—20.
138. Gruber, Münch. med. Wochenschr., **1901**, Nr. 49
139. Ruzicka, Bericht d. böhm. Akad. d. Wissensch., **1903**.
140. Doemeny, Wien. klin. Wochenschr., **1902**, Nr. 40.
141. Belley, Münch. med. Wochenschr., **1904**, Nr. 2.
142. Sawtschenko, Ann. Inst. Pasteur, T. 16, **1902**.
143. Levaditi, ebd., T. 15, **1901**.
144. Hermann, Bull. acad. d. sc. Belg., **1904**.
145. Mioni, Compt. rend. soc. biol., **1903**.
146. Walker, Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, S. 528, **1903**.
147. Pfeiffer, R., Deutsche med. Wochenschr., **1896**, Nr. 7.
148. Issaeff, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 16, S. 287, **1894**.
149. Pierallini, Ann. Pasteur, T. 11, p. 308, **1897**.
150. Gruber & Durham, Münch. med. Wochenschr., **1896**, S. 285.
151. Wolff, Berl. klin. Wochenschr., **1903**, Nr. 17—20.
152. Cantacuzène, Ann. Pasteur, T. 12, p. 288, **1898**.
153. Pfeiffer, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 18, S. 1, **1894**.
154. — Deutsche med. Wochenschr., **1896**, S. 121.

155. Ascher, Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, S. 449, **1902**.
156. Moxter, Deutsche med. Wochenschr., **1899**, S. 687.
157. — Centralbl. f. Bakt., Bd. 26, S. 344, **1899**.
158. Shibayama, ebd., Bd. 30, Nr. 21, **1901**.
159. Klein, Wien. klin. Wochenschr., **1902**, Nr. 52.
160. Tarassévitsch, Ann. Pasteur, **1902**, p. 127.
161. Landsteiner, Centralbl. f. Bakt., Bd. 25, S. 546, **1899**.
162. Gruber, Münch. med. Wochenschr., **1901**, S. 1967.
163. Petterson, Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, 45, 46, 50.
164. — Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1, S. 52, **1909**.
165. Kling, Zeitschr. f. Immunität u. exper. Ther., Bd. 7, S. 1, **1910**.
166. Zinsser, Journ. of Med. Res., **1910**.
167. Gruber & Futaki, Münch. med. Wochenschr., **1907**.
168. Schneider, Arch. f. Hyg., Bd. 70, S. 40, **1909**.
169. Weil, ebd., Bd. 71, S. 223, **1909**.
169a. Tsuda, ibid., p. 246.
170. Korschun & Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., **1902**, S. 870.
171. Donath & Landsteiner, Wien. klin. Rundschau, **1902**, S. 773.
172. — — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 43, S. 552, **1903**.
173. Dömény, Wien. klin. Wochenschr., **1902**.
174. Kyes & Sachs, Berl. klin. Wochenschr., **1903**.
175. Noguchi, Proceed. of the Soc. for. exp. Biol. and Med., Bd. 4, **1907**.
176. Landsteiner & Ehrlich, H., Centralb. f. Bakt., Bd. 45, S. 247, **1908**.
177. Conradi, Hofmeisters Beitr. zur chem. Physiol., Bd. 1, S. 193, **1902**.
178. Levaditi, Ann. Pasteur, T. 16, p. 233, **1902**.
179. Bayer, Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. Wien, Bd. 105, **1906**.
180. Landsteiner & Dautwitz, Hofmeisters Beitr., Bd. 9, S. 431, **1907**.
181. Bail & Petterson, Centralbl f. Bakt., Bd. 34, S. 167, 540, **1903**; Bd. 35, S. 102, 247, **1904**.
182. Fontes, ebd., Bd. 50, S. 78, **1909**.
183. Noguchi, Biochem. Zeitschr., Bd. 6, **1907**.
184. Levaditi, Compt. rend. de la Soc. d. Biol., T. 58, **1905**.
185. v. Liebermann & Fenyvessy, Berl. klin. Wochenschr., **1908**.
186. Rossau, Igiene sperimentale, Vol. 17, **1907**.
187. Turo & Pi y Suñer, Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, **1905**, S. 55.
187a. Albergo-Beretta, Lo Sperimentale, T. 62, p. 446.
188. Pirène, Centralbl. f. Bakt., Bd. 36, **1904**, S. 256.
189. Horton, Journ. of infect. diseas., Vol. 3, p. 103, **1906**.
190. Heim, Münch. med. Wochenschr., **1901**, S. 700.
191. — ebd., **1909**, S. 1.
192. Bezzola, Centralbl. f. Bakt., Bd. 50, S. 541, **1909**.
193. Ehrlich, Deutsche med. Wochenschr., **1891**, Nr. 12.
194. — ebd., Nr. 14.
195. Behring, Deutsche med. Wochenschr., **1890**.
196. — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 12, S. 45, **1892**.
197. Behring & Kitasato, Deutsche med. Wochenschr., **1890**.
198. Koch, R., ebd., **1885**.
199. Cantani, ebd., **1886**, S. 789.
200. Pfeiffer, R., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 11, S. 393, **1892**.
201. Gamaleïa, Arch. de méd., expérim. et d'anat. pathol., T. 4, p. 173, **1892**.
202. Gruber & Wiener, Arch. f. Hyg., Bd. 15, S. 241, **1892**.
203. Scholl, Prager med. Wochenschr., **1890**, Nr. 44.
204. Hueppe, Deutsche med. Wochenschr., **1891**, S. 1417.
205. — Berliner klin. Wochenschr., **1892**, S. 409.
206. Klein, Centralbl. f. Bakt., Bd. 13, S. 426, **1893**.
207. Zenthöffer, ebd., Bd. 16, S. 362, **1894**.
208. Hammerl, Hyg. Rundschau, **1893**, Nr. 13.
209. Metschnikoff, Roux-Taurelli, Salimbeni, Ann. Pasteur, **1896**, p. 257.
210. Behring & Ransom, Deutsche med. Wochenschr., **1895**, S. 457.
211. Emmerich & Tsuboi, Münch. med. Wochenschr., **1893**, S. 473, 497.
212. Klemperer, „Untersuchungen über Infektion und Immunität bei der asiatischen Cholera", Berlin, Hirschwald, **1894**.
213. Brau & Denier, Compt. rend. Acad. d. Sc., **1906**.
214. — — Ann. Inst. Pasteur, S. 578, **1906**.
215. Gotschlich, F., Conseil semit. d'Egypte, Alexandrie **1905**.
216. — Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 38, **1906**, Beih., S. 90.

217. Kraus & Prantschoff, Wien. klin. Wochenschr., **1906**.
218. — — Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, S. 377, **1906**.
219. Kraus & Pribram, Wien. klin. Wochenschr., **1905**.
220. — — Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, S. 15, **1906**.
221. Huntemüller, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 68, S. 221, **1911**.
222. Aronson, Berl. klin. Wochenschr., **1907**, S. 572.
223. Moreschi, Arch. per le Sc. med., Vol. 29, **1905**.
224. Kraus & Stennitzer, Wien. klin. Wochenschr., **1907**.
225. Richet & Héricourt, Compt. rend. de la Soc. des scienc., T. 107, p. 750, **1888**.
226. Charrin & Gamaleïa, Compt. rend. soc. biol., **1890**, p. 294.
227. Emmerich & Mastbaum, Arch. f. Hyg., **1891**, S. 275.
228. Metschnikoff, Ann. Pasteur, T. 6, p. 294, **1892**.
229. Wassermann, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 14, S. 35, **1893**.
230. Pfeiffer & Wassermann, ebd., S. 46.
231. Pfeiffer, ebd., Bd. 16, S. 268, **1894**.
232. Brieger, Kitasato & Wassermann, ebd., Bd. 12, S. 137, **1892**.
233. Lazarus, Berl. klin. Wochenschr., **1892**, Nr. 43.
234. — ebd., **1893**, Nr. 51.
235. Bergel & Meyer, Med. Klinik, **1906**.
236. Pfeiffer & Friedberger, Centralbl. f. Bakt., Bd. 47, S. 98, **1908**.
237. Kraus & Russ, ebd., Bd. 45, S. 258, **1908**.
238. Besredka, Ann. Inst. Pasteur, T. 20, p. 304, **1906**.
239. Latineano, Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, S. 185, **1906**.
240. Mac Fadyen & Rowland, Centralbl. f. Bakt., Bd. 30, **1901**.
241. — — ibid., Bd. 34, **1903**.
242. Pfeiffer & Bessau, ebd., Bd. 56, S. 349, **1910**.
243. Friedberger, Med. Klinik, **1910**, Nr. 13.
243a. Friedberger & Vallardi, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Therap., Bd. 7, S. 94, **1910**.
244. Wassermann, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 22, S. 263, **1896**.
245. Klein, Centralbl. f. Bakt., Bd. 20, S. 417, **1896**.
246. van der Velde, ebd., Bd. 22, S. 527, **1897**.
247. Lambotte, ebd., Bd. 30, S. 817, **1901**.
248. Bandi, ebd., Bd. 32, **1902**.
249. Wassermann, Deutsche med. Wochenschr., **1902**, S. 785.
250. Schwoner, Wiener klin. Wochenschr., **1902**.
251. Lipstein, Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, S. 421, **1903**.
252. Sauerbeck, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, S. 731, **1909**.
253. Ohkubo, ebd., Bd. 4, **1910**.
254. Wassermann, Rapp. XIII. intern. Hyg.-Kongreß, Brüssel **1903**, I. Sekt.
255. Neisser & Shiga, Deutsche med. Wochenschr., **1903**, S. 61.
256. Friedberger, Berl. klin. Wochenschr., **1910**, Nr. 32.
257. — ebd., Nr. 42.
258. Friedberger & Schütze, ebd., **1911**, Nr. 9.
259. Friedberger, Goldschmidt, Szymanowski, Schütze, Nathan, Zeitschr. f. Immunität, Bd. 9, H. 3, **1911**.
260. Friedberger & Mita, ebd., Bd. 10, H. 4, **1911**.
261. Friedberger & Girgolaff, ebd., Bd. 11, H. 3, **1911**.
262. Friedberger & Reiter, ebd., **1911**, H. 5.
263. Friedberger, Münch. med. Wochenschr., **1911**, Nr. 52.
264. Friedberger & Nathan, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, S. 567, **1911**.
265. Friedberger, Sammelreferat über Anaphylaxie in Deutsche Klinik, herausgeg. von v. Leyden, u. Klemperer, Ergänzungsbd., **1911**.
266. Neufeld & Dold, Berl. klin. Wochenschr., **1911**, Nr. 2.
267. Pfeiffer & Bessau, Centralbl. f. Bakt., Bd. 56, S. 349. **1910**.
268. Friedberger & Kumagai, Verhandl. Mikrobiol. Vereinig., Centralbl. f. Bakt., Ref., **1912**, Beih.
269. Magnus, Pflügers Arch., Bd. 102, S. 123, **1904**.
270. Friedberger & Mita, Zeitschr. f. Immunität, Bd. 10, H. 3, **1911**.
271. — Berl. klin. Wochenschr., **1911**, Nr. 42.
272. — ebd., **1912**.
273. De Waele, Zeitschr. f. Immunität, Bd. 3, S. 478, **1909**.
274. Dold & Ungermann, ebd., Bd. 11, S. 86.
274a. Aronson, Berl. klin. Wochenschr., **1912**.
274b. Friedberger, Deutsche med. Wochenschr., **1911**, Nr. 11.

275. Pfeiffer, R., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 18, S. 1, **1894**.
276. — Deutsche med. Wochenschr., **1894**, S. 898.
277. Pfeiffer & Isaeff, ebd., Nr. 13, S. 305.
278. — — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 17, S. 355, **1894**.
279. Pfeiffer, ebd., Bd. 19, S. 75, **1895**.
280. — ebd., S. 75.
281. — ebd., Bd. 20, S. 198, **1895**.
282. — Deutsche med. Wochenschr., **1896**, Nr. 7/8.
283. Pfeiffer & Kolle, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 21, S. 203, **1896**.
284. Pfeiffer & Vagedes, Centralbl. f. Bakt., Bd. 19, S. 385, **1896**.
285. — — ebd,, Bd. 20, S. 198, **1895**.
286. Pfeiffer, Deutsche med. Wochenschr., **1896**, S. 232.
287. Wassermann, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 14, S. 35, **1893**.
288. Metschnikoff, Ann. Pasteur, **1903**, Nr. 5.
289. Pfeiffer, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 16, S. 283, **1894**.
290. Sobernheim, Hyg. Rundsch., **1895**, S. 145.
290[a]. Karwatzky, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 54, S. 39, **1906**.
291. Svenson, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 64, S. 343, **1904**.
292. Kolle, Hetsch & Otto, ebd., Bd. 68, S. 368, **1904**.
293. Markl, ebd., Bd. 42, S. 244, **1903**.
294. Kraus & Clairmont, ebd., Bd. 34, S. 1, **1900**.
295. Radziewski, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37, S. 1, **1901**.
296. Laubenheimer, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 56, S. 170, **1905**.
297. Töpfer & Jaffé, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52, S. 393, **1906**.
298. Böhme, ebd., S. 97.
299. Kutscher & Meinicke, ebd., S. 301.
300. Sobernheim, ebd., Bd. 31, S. 89, **1899**.
301. Sawtschenko, Ann. Inst. Pasteur, T. 11, **1897**.
302. Metschnikoff, Ann. Inst. Pasteur, T. 1.
303. Marchoux, ebd., S. 785, **1895**.
304. Gruber, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 38, Beih., **1906**.
305. Ascoli, ebd., Orig., Bd. 46, S. 178, **1908**.
306. — Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 48, S. 315, **1906**.
307. Tschistowitsch, Fol. Haematol., **1907**, p. 295.
308. Ottolenghi, Münch. med. Wochenschr., **1907**, Nr. 13.
309. — Centralbl. f. Bakt., Bd. 37, S. 584, **1904**.
310. Gruber & Futaki, Münch. med. Wochenschr., **1907**, S. 249.
311. — — Deutsche med. Wochenschr., **1907**, S. 1588.
312. Barreau, Arch. f. Hyg., Bd. 70, S. 331, **1909**.
313. Werbitzki, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 68, S. 63, **1911**.
314. Schneider, Arch. f. Hyg., Bd. 70, S. 40, **1909**.
315. Gruber & Othaki, Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Biol., München **1907**.
316. Bonaduce, Zieglers Beitr., **1893**, S. 353.
317. Bail & Petterson, Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, S. 167, **1903**.
318. Spät, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 69, S. 463, **1911**.
319. Weil, ebd., Bd. 68, S. 346, **1911**.
320. — Arch. f. Hyg., Bd. 61, S. 293, **1907**.
321. Aronson, Berl. klin. Wochenschr., **1902**, S. 947.
322. Marx, Deutsche tierärztl. Wochenschr., **1901**, Nr. 6.
323. Neisser & Wechsberg, Münch. med. Wochenschr., **1901**, S. 697.
324. Töpfer & Jaffé, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52, S. 393, **1906**.
325. Wassermann, Berliner klin. Wochenschr., **1907**.
326. Moreschi, ebd., **1905**, **1906**.
327. — Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 38, Beiheft, **1906**.
328. Wassermann & Leuchs, Berl. klin. Wochenschr., **1907**.
329. Kolle & Wassermann, Deutsche med. Wochenschr., **1906**.
330. Neufeld, Med. Klinik, **1908**.
331. Flexner & Jobling, Journ. of exper. Med., Vol. 10, **1908**.
332. Onaka, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 66, S. 348, **1910**.
333. Sobernheim & Jakobitz, Berl. klin. Wochenschr., **1904**, Nr. 26.
334. Walker, Journ. of Hyg., Vol. 2, p. 85.
335. Löffler & Abel, Centralbl. f. Bakt., Bd. 19, S. 51, **1896**.
336. Dunbar, Deutsche med. Wochenschr., **1895**, Nr. 9.
337. Georghiewski, Ann. Pasteur, T. 13, p. 308, **1899**.
338. Sawtschenko, Arch. russ. de Pathol., T. 9, p. 578, **1900**.
339. Sawtschenko & Melkich, Ann. Pasteur, T. 15, p. 502, **1901**.

340. Sawtschenko & Melkich, Ann. Pasteur, T. 16, p. 756, **1902**.
341. Defalle, ibid.
342. Petterson, Centralbl. f. Bakt., Bd. 50, S. 634, **1909**.
343. Weil, ebd., Bd. 43, S. 160, **1907**.
344. Klein, ebd., Bd. 13, S. 426, **1893**.
345. Fränkel, C., Hyg. Rundschau, **1894**, S. 577.
346. Sanarelli, Ann. Pasteur, T. 7, p. 255, **1893**.
347. Issaeff, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 16, S. 287, **1894**.
348. Dunbab, Deutsche med. Wochenschr., **1895**, Nr. 9.
349. Funk, La Sérothérapie de la fièvre typhoide, Bruxelles **1896**.
350. Metschnikoff, Ann. Pasteur, T. 9, p. 433, **1895**.
351. Bordet, Ann. de la soc. de sc. méd. et nat. de Bruxelles, T. 4, p. 455, **1894**.
351a. Friedberger, Centralbl. f. Bakt., Bd. 40, S. 405, **1906**.
352. Löffler & Abel, Centralbl. f. Bakt., Bd. 19, S. 51, **1896**.
353. Dünschmann, Ann. Pasteur, **1894**, p. 403.
354. Cohn, E., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 45, S. 61, **1903**.
355. Walker, Journ. of Path. and Bakt., Vol. 7.
356. Pfeiffer, Festschr. z. 60. Geburtstag R. Kochs, Jena **1903**.
357. Bail & Rubritius, Centralbl. f. Bakt., Bd. 43, S. 641, **1907**.
358. Friedberger, Festschr. z. 60. Geburtstag von E. Salkowski, Berlin **1904**.
359. Friedberger & Moreschi, Berl. klin. Wochenschr., **1905**.
360. — — Deutsche med. Wochenschr., **1906**.
361. Besserer & Jaffé, ebd., **1905**.
362. Friedberger, Handb. von Kraus-Levaditi, Bd. 1, S. 774, **1908**.
363. Bail, Arch. f. Hyg., Bd. 52, S. 272, **1905**.
364. Friedberger, Centralbl. f. Bakt., Bd. 44, S. 33, **1907**.
365. Wassermann & Citron, ebd., Bd. 43, S. 373, **1907**.
366. Pfeiffer & Scheller, ebd., Ref., Bd. 38, S. 15, **1906**.
367. Doerr, Wien. klin. Wochenschr., **1906**.
368. — Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 38, S. 14, **1906**.
369. — ebd., Orig., Bd. 41, S. 497, **1906**.
370. Sauerbeck, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therap., Bd. 3, S. 731, **1909**.
371. Bail, Berl. klin. Wochenschr., **1907**.
372. Weil, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 56, S. 509, **1907**.
373. de Waele, Centralbl. f. Bakt., Bd. 44, S. 360, **1907**.
374. Doerr, Ueber Aggressine, Salus, Ueber Aggressine, Doerr, Erwiderung auf den Artikel von Salus. Wien. klin. Wochenschr., **1906**.
375. Levi & Fornet, Deutsche med. Wochenschr., **1906**, S. 1039.
374a. Friedberger, Berl. klin. Wochenschr., **1905**, Nr. 15.
376. Jürgens, Berl. klin. Wochenschr., S. 141, **1905**.
377. Ascher, Centralbl. f. Bakt., Bd. 31, S. 125, **1901**.
378. Mertens, Deutsche med. Wochenschr., **1901**, S. 381.
379. Friedberger, Festschrift zum 70. Geburtstage E. v. Leydens, Bd. 2, **1902**.
380. — Berl. klin. Wochenschr., **1904**, S. 242.
381. Müller, P. Th., Wien. klin. Wochenschr., **1903**.
382. Fränkel, C., Berl. klin. Wochenschr., **1905**.
383. Trommsdorff, Arch. f. Hyg., Bd. 59, S. 1, 224, **1906**.
384. Fukuhara, Arch. f. Hyg., Bd. 55, **1906**.
385. Kolle, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 19, S. 97, **1896**.,
386. — Deutsche med. Wochenschr., **1897**, Nr. 1.
387. Friedberger & Moreschi, Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, S. 453, **1905**.
388. Löffler, Deutsche med. Wochenschr., **1904**.
389. Pfeiffer & Marx, Deutsche med. Wochenschr., **1898**, S. 471.
390. — — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 27, S. 272, **1898**.
391. Calmette & Breton, Compt. rend. de la soc. de biol., **1902**, p. 1013.
392. Löffler & Abel, Festschrift zum 100-jähr. Bestehen des med.-chir. Friedrich-Wilhelminstituts, Berlin, Hirschwald, **1895**, S. 463.
392a. Cole, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 46, S. 371, **1904**.
393. Kollmann, Hyg. Rundschau, Bd. 7, S. 585, **1897**.
394. Wassermann & Strong, zit. nach Wassermann, Compt. rend., T. 13, Congr. internat. d'hygiène, Brussel T. 2, **1903**.
395. Pfeiffer & Friedberger, Berl. klin. Wochenschr., **1902**.
396. Strong, Centralbl. f. Bakt., Bd. 37, Ref., S. 286, **1904**.
397. Gaffky, Pfeiffer, Sticker & Dieudonné, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 16, **1899**.
398. Meinicke, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52, S. 416, **1906**.

399. Jaffé & Flemming, ebd., S. 416.
400. Ferran, Compt. rend. de l'Acad. des scienc., 1885.
401. — Compt. rend. de la soc. de biol., 1892.
402, Kolle & Strong, Deutsche med. Wochenschr., 1906, Nr. 11.
403. Strong, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg., Bd. 10, 1906.
404. Brieger & Mayer, Deutsche med. Wochenschr., 1903, S. 309.
405. Gabritschewsky, Russky Wratsch, 1906.
406. Friedberger, Verhandl. d. deutschen Kolonialkongresses, 1905, S. 211.
407. Händel, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 30, 1909.
408. Händel & Woithe, ebd., Bd. 34, 1910.
409. Carrière & Tamarkin, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. experim. Therap., Bd. 4, S. 30, 1909.
410. Kraus, Verhandl. des internat. Dermatologenkongresses Bern.
411. Löffler, v. Leuthold-Gedenkschrift, Berlin, Hirschwald, 1906, Bd. 1, S. 247.
412. Wassermann & Citron, Deutsche med. Wochenschr., 1905, S. 572.
413. — — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 50, S. 331, 1905.
414. Friedberger, Centralbl. f. Bakt., Bd. 40, S. 405. 1906.
415. Wright, G. Fischer, Jena 1906.
416. Brieger & Meyer, Verhandl. d. deutsch. Kolonialkongr., 1905, S. 182.
417. — — Deutsche med. Wochenschr., 1903, S. 309.
417a. Cloëtta, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm., Bd. 54, 1906.
417b. Pfeiffer & Marx, Deutsche med. Wochenschr., 1898, Nr. 31.
418. Bassenge & Rimpau, Festschrift z. 60. Geburtstage R. Kochs, Jena 1903.
419. Steudel, Verhandl. d. Kolonialkongr., 1905.
420. Schian, ebd.
421. Eichholz, Münch. med. Wochenschr., 1907.
422. Kuhn, Deutsche militärärztl. Zeitschr., 1907.
423. Wright, Lancet, 1896.
424. Pfeiffer & Friedberger, Centralbl. f. Bakt., Bd. 47, 1908.
425. Brieger & Ehrlich, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 13, S. 336, 1893.
426. Salomonsen & Madsen, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1897, p, 315.
427. Morgenroth, Centralbl. f. Bakt., Bd. 26, S. 349, 1901.
428. Bulloch & Sachs, Arch. f. Anat. u. Physiol., 1903.
429. Jürgensen & Madsen, Festschr. z. Einweihung des Seruminstituts, Kopenhagen 1902.
430. v. Dungern, Die Antikörper, Jena, G. Fischer, 1903.
431. Leclainche & Vallé, Ann. Inst. Pasteur, 1902.
432. Leclainche, Revue gén. méd. vét., 1911.
433. Levi & Blumenthal, Med. Klinik, 1906.
434. Russel, Boston med. u. Surg. Journ., 1911, p. 1.
435. Courmont & Rochaix, Lyon med., 1911, p. 233.
436. Neisser & Shiga, Deutsche med. Wochenschr., 1903.
437. Macfadyen & Rowland, Centralbl. f. Bakt., Bd. 30, 1901, S. 753.
438. Bergell & Meyer, Med. Klinik, 1906.
438a. Bischoff, H., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 54, S. 252, 1906.
439. Neufeld, Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Ther., Bd. 6, S. 729, 1909.
440. Schütze, A., Festschr. z. 60. Geburtstage R. Kochs, Jena, 1903, S. 657.
441. Pfeiffer & Friedberger, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 37, S. 131.
442. Besredka, Ann. Inst. Pasteur, T. 16, p. 918, 1904.
443. — Compt. rend. de l'Acad. des Sc., 1902, p. 1330.
444. Lorenz, Centralbl. f. Bakt., Bd. 13, S. 357, 1893.
445. — Deutsche Zeitschr. f. Tiermed., 1894.
446. Leclainche, Ann. Pasteur, 1900.
447. Triglia & Mazzuoli, Clinica med. ital., 1905.
448. Fischera, Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, S. 576, 1906.
449. Levy & Aoki, Zeitschr. f. Immun., Bd. 7, S. 435, 1910.
450. Haffkine, Lit. s. bei Friedberger, Choleraschutzimpfung in Kraus-Levaditi Handb.
451. Fedorow, Zeitschr. f. Hyg., 1893.
452. Klemperer, Berl. klin. Wochenschr., 1892.
453. Kolle, Deutsche med. Wochenschr., 1897.
454. Bail, Centralbl. f. Bakt., Bd. 36, Nr. 2 u. 3, 1904.
455. — ebd., Bd. 37, S. 270, 1904.
456. Bail & Weil, ebd., Bd. 41, S. 536, 1906.
457. Hueppe & Kikuchi, ebd., Bd. 39, S. 610, 1905.
458. Levy & Fornet, Deutsche med. Wochenschr., 1906, S. 1039.

459. Ballner, Centralbl. f. Bakt., Bd. 42, S. 247, **1906**.
460. Erben, ebd., Bd. 41, S. 370, **1906**.
461. Huntemüller, ebd.
462. Citron, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52, S. 238, **1906**.
463. — ebd., Bd. 53, S. 515, **1906**.
464. Citron & Pötsch, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 56, S. 81 u. 145, **1907**.
465. Sauerbeck, Ueber die Aggressine, eine experimentelle Studie.
466. Emmerich & Tsuboi, Verhandl. d. XI. Kongr. f. innere Med., Leipzig **1892**.
467. Emmerich, Tsuboi, Steinmetz & Löw, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 12, Nr. 11/12, **1892**.
468. Pfeiffer & Proskauer, ebd., Bd. 19, S. 191, **1896**.
469. Mertens, Deutsche med. Wochenschr., **1901**, S. 381.
470. Pick, E. P., Beitr. z. chem. u. phys. Pathol. von Hofmeister, Bd. 1, H. 7–12, **1902**.
471. Rodhain, ebd., Bd. 3, S. 451, **1903**.
472. Fuhrmann, Hofmeisters Beiträge zur chem. Physiol., Bd. 3, Nr. 417, **1903**.
473. Wolff, Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, Nr. 9, **1903**.
474. Pick, E. P., ebd., Bd. 34, S. 556, **1903**.
474[a]. Pfeiffer & Marx, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 27, S. 272, **1898**.
475. Wassermann, Berl. klin. Wochenschr., **1898**, S. 209.
476. Deutsch, Ann. Pasteur, T. 13, p. 689, **1899**.
477. Castellani, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37, S. 381, **1901**.
478. Römer, Arch. f. Ophthalm., Bd. 52, S. 72, **1901**.
479. v. Dungern, Die Antikörper, Jena, Fischer **1903**.
480. Wassermann & Citron, Deutsche med. Wochenschr., **1905**, S. 572.
481. — — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 50, **1905**, S. 331.
482. Poetsch, Centralbl. f. Bakt., Bd. 60, S. 255, **1911**.
483. Hektoen, Journ. of infect. dis., Vol. 9, **1911**.
484. Friedberger & Girgoloff, Zeitschr. f. Immunität, Bd. 9, S. 575, **191**
485. Girgoloff, ebd., Bd. 12, S. 401, **1912**.
486. Heck, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 56, S. 1, **1907**.
487. Sobernheim, ebd., Bd. 14, S. 485, **1893**.
488. Metschnikoff, Ann. Pasteur, T. 9, p. 433, **1895**.
489. — ibid., p. 462.
490. Bordet, ibid., T. 16, p. 193, **1896**.
491./492. — ibid., T. 12, p. 688, **1898**.
493. — ibid., T. 13, p. 273, **1899**.
494. — ibid., T. 14, p. 257, **1900**.
495. — ibid., T. 15, p. 303, **1901**.
496. Bordet & Gengou, ibid., T. 15, p. 289, **1901**.
497. Ehrlich & Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., **1899**, Nr. 1, S. 6.
498. — — ebd., Nr. 22.
499. — — ebd., **1900**, Nr. 21.
500. — — ebd., Nr. 31.
501. — — ebd., **1901**, Nr. 10.
502. — — ebd., Nr. 21/22.
503. Ehrlich, Klin. Jahrb., Bd. 4, **1897**.
504. Ehrlich, Croonian Lecture: Proc. of the R. Soc., Vol. 66, p. 424, **1900**.
505. Schlußbetrachtungen, Nothnagels Spez. Pathol. u. Therap., Bd. 8, Wien **1901**.
506. — Die Seitenkettentheorie und ihre Gegner. Münch. med. Wochenschr., **1901**.
507. — Deutsche med. Wochenschr., **1901**, S. 865.
508. — Festschrift zum 70. Geburtstage E. v. Leydens, Berlin, Hirschwald **1902**.
509. — Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus, Berlin, Hirschwald **1885**.
510. Daremberg, Arch. d. med. exp., T. 3, p. 720, **1891**.
511. Landsteiner, Centralbl. f. Bakt., Bd. 25, S. 546, **1899**.
512. v. Dungern, Münch. med. Wochenschr., **1899**.
513. Danysz, Ann. Pasteur, T. 14, p. 640, **1900**.
514. Krompecher, Centralbl. f. Bakt., Bd. 28, S. 588, **1900**.
515. Landau, Ann. Pasteur, T. 17, p. 52, **1903**.
516. Nicolle, Ann. Inst. Pasteur, **1908**.
516[a]. Eisenberg, Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, **1906**.
516[b]. Shibayama, ibid., Bd. 42, **1906**, S. 64, 144.
517. Bürger, Verhandl. Mikrobiol. Vereinigung. Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 50 Beiheft, **1911**.
518. Pfeiffer, Rapport XIII. intern. Kongr. f. Hyg., Brüssel **1903**.
519. Bruck, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 46, S. 196, **1903**.

520. Landsteiner & Jagič, Münch. med. Wochenschr., **1903**, S. 764.
521. Bail & Tsuda, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1, **1909**.
522. v. Dungern, Münch. med. Wochenschr., **1900**, S. 677.
523. Sachs, Centralbl. f. Bakt., Bd. 30, S. 491, **1901**.
524. Pfeiffer, Deutsche med. Wochenschr., **1901**, S. 867, 891.
525. Pfeiffer & Friedberger, Berl. klin. Wochenschr., **1902**, Nr. 25.
526. Friedberger & Moreschi, Berl. klin. Wochenschr., **1908**.
527. Bang & Forssman, Centralbl. f. Bakt., Bd. 40, S. 151, **1906**.
528. — Hofmeisters Beiträge, Bd. 8, **1906**.
529. — Biochem. Zeitschr., Bd. 9, 15, **1908**.
530. — Münch. med. Wochenschr., **1909**, Nr. 35.
531. Ehrlich & Sachs, ebd., **1909**, Nr. 49 50.
532. Neisser & Lubowski, Berl. klin. Wochenschr., **1901**, S. 483.
533. Rehns, Compt. rend. de la soc. de biol., **1900**, p. 1058.
534. Gruber & Durham, Münch. med. Wochenschr., **1896**, S. 285.
535. Pfeiffer, R., Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 19, S. 543, **1896**.
536. Hahn & Trommsdorff, Münch. med. Wochenschr., **1900**, S. 413.
537. Neufeld & Haendel, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 28, **1908**, S. 198.
538. Gruber, Münch. med. Wochenschr., **1901**, S. 1924, 1965.
539. v. Liebermann, Deutsche med. Wochenschr., **1906**, S. 249.
540. Pfeiffer & Friedberger, Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, S. 77, **1903**.
541. Bail & Tsuda, ebd., Bd. 48, S. 194, **1909**.
542. Bail, Deutsche med. Wochenschr., **1905**, S. 1788.
543. Sachs & Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr., **1902**, Nr. 35.
544. Ehrlich & Sachs, ebd., **1902**, S. 492.
545. Ferrata, ebd., **1907**, Nr. 13.
546. Brand, ebd., **1907**, Nr. 34.
547. Hecker, Arb. a. d. Inst. f. exp. Therap. Frankf. a./M., **1907**, H. 3. Fischer, Jena.
548. Sachs & Altmann, Handb. von Kraus-Levaditi.
549. Liefmann & Cohn, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, 7, 8, **1910**.
550. Liefmann & Stutzer, Berl. klin. Wochenschr., **1910**, Nr. 42.
551. Braun, Zeitschr. f. Immunität u. exp. Therap., Bd. 9, S. 665, **1911**.
552. Liefmann, Verhandl. Mikrobiologentag **1911**; Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 50, Beih.
553. Morgenroth, Münch. med. Wochenschr., **1903**, S. 61.
554. Bail & Tsuda, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1, S. 546, **1909**.
555. Spaeth, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therap., Bd. 7, S. 712, **1910**.
556. Bail & Axamit, Berl. klin. Wochenschr., **1906**.
557. Kindborg, Centralbl. f. Bakt., Bd. 48, S. 335, **1909**.
558. Bail & Petterson, ebd., Bd. 34, **1903**, S. 167, 445, 540.
559. Kossel, H., Berl. klin. Wochenschr., **1898**, S. 152.
560. Camus & Gley, Arch. intern. de Pharm., T. 5, **1898**.
561. Tchistovitsch, Ann. Pasteur, T. 13, p. 406, **1899**.
562. Bordet, ibid., **1898**, p. 688.
563. — ibid., **1899**, p. 273.
564. Nolff, ebd., T. 14, p. 656, **1900**.
565. Ehrlich, Festschr. z. 60. Geburtstage R. Kochs, **1903**, S. 509, Jena, Fischer.
566. Buchner, Münch. med. Wochenschr., **1900**, S. 248.
567. Gruber, Verhandl. des XIII. internat. Hygienekongresses, Brüssel **1903**.
568. Friedberger, Centralbl. f. Bakt., Bd. 37, S. 125, **1904**.
569. Rössle, Münch. med. Wochenschr., **1904**.
570. Leuchs, Arch. f. Hyg., Bd. 54, **1905**, S. 396.
571. Moxter, Centralbl. f. Bakt., Bd. 26, S. 344, **1899**.
572. Wechsberg, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 39, S. 171, **1902**.
573. Pfeiffer & Friedberger, Berl. klin. Wochenschr., **1902**, S. 204.
574. Ford, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, S. 363, **1902**.
575. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., **1902**, Nr. 9/10.
576. Müller, P., Centralbl. f. Bakt., Bd. 29, S. 175 u. 860, **1901**.
577. London, Arch. d. scienc. biol., T. 8, **1901**.
578. Neisser & Döring, Berl. klin. Wochenschr., **1901**, Nr. 3 u. 4.
579. Meltzer, Med. Record., **1901**.
579a. — Centralbl. f. Bakt., Bd. 30, S. 278, **1901**.
580. Strauss & Wolff, Fortschr. d. Med., Bd. 30, **1902**.
581. Bordet & Gengou, Ann. Pasteur, T. 15, p. 289, **1901**.
582. Buchner, Münch. med. Wochenschr., **1899**, S. 1261.
583. — ebd., **1900**, S. 277.
584. — Berl. klin. Wochenschr., S. 834, **1901**.

585. Pfeiffer & Friedberger, ebd., **1902**, S. 581.
586. Shibayama, Centralbl. f. Bakt., Bd. 30, S. 760, **1901**.
587. Landsteiner, Münch. med. Wochenschr., **1902**, S. 1905.
588. Müller, P., Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, S. 111, **1903**.
589. Pfeiffer & Friedberger, Deutsche med. Wochenschr., **1901**, S. 834.
590. Denys & Kaisin, La Cellule, T. 9, **1893**.
591. Kruse, Zieglers Beiträge, Bd. 12, S. 363, **1893**.
592. Behring & Nissen, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 8, S. 412, **1890**.
593. Pfeiffer & Friedberger, Berl. klin. Wochenschr., **1902**, S. 204.
593a. Wechsberg, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 39, S. 171, **1909**; Wien. klin. Wochenschr., **1908**, S. 412.
594. Besredka, Ann. Pasteur, T. 15, p. 204, **1901**.
595. Bordet, ibid., T. 13, p. 225, **1899**.
596. Malkoff, Deutsche med. Wochenschr., **1900**, S. 229.
597. Landsteiner & Sturli, Wien. klin. Wochenschr., **1902**.
598. Neisser, M., Deutsche med. Wochenschr., **1900**, S. 780.
599. Gruber, Münch. med. Wochenschr., **1901**.
600. Morgenroth & Sachs, Berl. klin. Wochenschr., **1902**, S. 631.
601. Gruber, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 44, **1909**.
602. Lambotte & Stiennon, Centralbl. f. Bakt., Bd. 40, S. 224, **1906**.
603. Neufeld, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 28, **1908**.
604. Petterson, Centralbl. f. Bakt., Bd. 45, S. 160, **1908**.
605. Neufeld & Hühne, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 25, **1907**.
606. Weil, Centralbl. f. Bakt., Bd. 43, S. 190, **1907**.
607. Weil & Toyosami, Arch. f. Hyg., Bd. 71, S. 263, **1909**.
608. Toyosami, ebd., S. 287.
609. Sobernheim, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 31, S. 89, **1899**.
610. Ehrlich & Sachs, Berl. klin. Wochenschr., **1902**, Nr. 14, S. 297.
611. Schattenfroh, Arch. f. Hyg., Bd. 35, S. 199, **1899**.
612. Wendelstadt, Centralbl. f. Bakt., Bd. 31, S. 469, **1902**.
613. Sachs, Berl. klin. Wochenschr., **1902**, Nr. 9–10.
614. Neisser, Deutsche med. Wochenschr., **1900**, S. 780.
615. Wechsberg, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 39, S. 171, **1902**.
616. Wassermann, ebd., Bd. 37, S. 173, **1901**.
617. Wilde, Habilitationsschr. München, **1902**.
618. Ottolenghi & Mori, Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, **1905**.
619. Sclavo, zit. nach Ottolenghi & Mori.
620. Rény, Bulletin Acad. méd. Belg., **1903**.
621. — Ann. Pasteur, **1903**, **1905**.
622. Moreschi, Berl. klin. Wochenschr., **1905**.
623. — ebd., **1906**.
624. — Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, **1906**.
625. Neufeld & Händel, Mitteil. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 28, **1908**.
626. Gay & Ayer, Journ. of med. Res., **1907**.
627. Kruse, Zieglers Beitr., **1893**, S. 333.
628. Bonaduse, ebd., ebd., S. 353.
629. Walz, Arb. a. d. path. Inst. Tübingen, Bd. 4, **1899**.
630. Bail, Centralbl. f. Bakt., Bd. 27, S. 10 u. 517, **1900**.
631. — ebd., Bd. 33, S. 348, **1903**.
632. Petterson, Arch. f. Hyg., Bd. 43, S. 70, **1902**.
633. Wilde, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37, S. 476, **1901**.
634. Sawtschenko, Ann. Past., T. 11, p. 865, **1897**.
635. Bail, Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, S. 610, **1903**.
636. Bail & Petterson, ebd., Bd. 34, S. 167.
637. — ebd., S. 445.
638. Steinhard, Edna, Journ. of med. research, Vol. 14, **1905**.
638a. Muir & Browning, Journ. of Pathol. and Bact., Vol. 13.
639. Gengou, Ann. Pasteur, T. 15, p. 68, **1901**.
640. Marshall & Morgenroth, Centralbl. f. Bakt., Bd. 31, S. 570, **1902**.
641. Moreschi, Berl. klin. Wochenschr., **1905**, Nr. 37.
642. ebd., **1906**, Nr. 4.
643. Pfeiffer & Moreschi, ebd., **1906**, Nr. 2.
644. Morgenroth & Sachs, Berl. klin. Wochenschr., **1902**, S. 631.
645. Ehrlich & Sachs, ebd., Nr. 14/15.
646. Bordet, Ann. Inst. Pasteur, T. 14, p. 257, **1900**.
647. Ehrlich & Marshall, ebd., Nr. 25, S. 585.

648. Kiss, Zeitschr. f. Immunität u. experim. Therap., Bd. 3, S. 558, **1909**.
649. Scheller, Centralbl. f. Bakt., Bd. 56, S. 120, **1910**.
649[a]. Rusznynk, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, S. 427, **1911**.
650. Ottolenghi, Centralbl. f. Bakt., Bd. 37, **1904**.
650[a]. Friedberger & Bettac, Zeitschr. f. Immunität, Bd. 12, S. 29, **1912**.
650[b]. Müller, Centralbl. f. Bakt., Bd. 57, S. 577, **1911**.
650[c]. Marié, Compt. rend. soc. biol., **1908**–**10**.
650[d]. Nolf, Ann. Pasteur, **1900**, p. 175.
650[e]. Müller, P. Th., Centralbl. f. Bakt., Bd. 29, S. 175, 513, **1901**.
650[f]. Bulloch, ebd., S. 725.
650[g]. Busse, ebd., Bd. 47, S. 366, **1908**.
650[h]. Lüdtke, Münch. med. Wochenschr., **1905**, Nr. 30.
650[i]. Sweet, Centralbl. f. Bakt., Bd. 35, S. 259, **1903**.
651. Neisser & Wechsberg, Münch. med. Wochenschr., **1901**, S. 697.
652. Gruber, Wien. klin. Wochenschr., **1901**, Nr. 50.
653. Wechsberg, ebd., Nr. 51.
654. Gruber, ebd., **1902**, Nr. 15.
655. Wechsberg, ebd., Nr. 28.
656. Lipstein, Centralbl. f. Bakt., Bd. 31, S. 460, **1902**.
657. Levaditi, Compt. rend. d. l. soc. biol., **1902**, Nr. 26.
657[a]. Buxton, B. H., Journ. of medical Research, Vol. 13, **1905**.
657[b]. Gay, Ann. Int. Past., T. 22, **1905**.
658. Löffler & Abel, ebd., Bd. 19, S. 51, **1896**.
659. Leclainche & Morel, Ann. Pasteur, T. 15, p. 1, **1901**.
660. Pfeiffer & Friedberger, Deutsche med. Wochenschr., **1905**, Nr. 1.
661. Bail, Arch. f. Hyg., Bd. 52, S. 272, **1905**.
662. Pfeiffer & Friedberger, Deutsche med. Wochenschr., **1905**, Nr. 29.
663. Sachs, ebd., **1905**, Nr. 18.
664. Gay, Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, S. 172, 603, **1905**.
665. Pfeiffer & Friedberger, ebd., Bd. 41, **1906**.
666. Hetsch & Lentz, Festschr. z. 60. Geburtst. R. Kochs, Jena **1903**.
667. Haffkine, Ann. Past., T. 4, p. 363, **1890**.
668. Leclef, La Cellule, T. 10, p. 379, **1894**.
669. van der Velde, ibid., T. 10, p. 403, **1894**.
670. Nadoleczny, Arch. f. Hyg., Bd. 37, S. 277, **1900**.
671. Pfeiffer & Kolle, Centralbl. f. Bakt., Bd. 20, S. 129, **1896**.
672. Bordet, Ann. Pasteur, T. 10, p. 104, **1896**.
673. — ibid., T. 11, p. 177, **1897**.
674. — Arch. de méd. expér., T. 10, p. 253, **1898**.
675. Danyscz, Ann. Past., T. 14, p. 641, **1900**.
676. Eisenberg & Volk, Wien. klin. Wochenschr., **1901**, Nr. 50.
677. — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, S. 155, **1902**.
678. Kolle, Hetsch & Otto, ebd., Bd. 48, S. 368, **1904**.
679. Kolle & Otto, ebd., Bd. 40, S. 395, **1902**.
680. Radziewski, ebd., Bd. 37, S. 1, **1901**.
681. Pfeiffer & Friedberger, Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, S. 70, **1903**.
682. Denys & van der Velde, La Cellule, T. 11, p. 359, **1896**.
683. van der Velde, Centralbl. f. Bakt., Bd. 23, S. 692, **1898**.
684. Bail, Arch. f. Hyg., Bd. 30, S. 348, **1897**.
685. v. Lingelsheim, Aetiologie u. Therapie d. Staphylokokkeninfektion, Berlin **1900**.
686. Neisser & Wechsberg, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 36, S. 299, **1901**.
687. Deutsch, Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, S. 224, **1903**.
688. Metschnikoff, Ann. Pasteur, T. 1, p. 42, **1887**.
689. Charrin, Compt. rend. d. l. soc. d. biol., **1889**.
689[a]. — ibid., **1891**.
690. — ibid., **1890**, p. 203, 331.
691. Roger, ibid., **1890**, p. 573.
692. — Rev. gén. des scienc., **1891**, p. 410.
693. Metschnikoff, Ann. Pasteur, T. 6, p. 289, **1892**.
694. Issaeff, ibid., T. 7, p. 261, **1893**.
695. Sanarelli, ibid., p. 230.
696. Bordet, ibid., T. 11, p. 177, **1897**.
697. Mesnil, ibid., T. 12, p. 481, **1898**.
698. Vallée, Compt. rend. d. l. soc. d. biol., **1899**, p. 432.
699. Walker, Journ. of Path. and Bakt., Vol. 8, Nr. 1, **1902**; Ref. Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 32, S. 115, **1903**.

700. Hamburger, Wien. klin. Wochenschr., **1903**, Nr. 4.
701. Shaw, Brit. med. Journ., **1903** May.
702. Pfeiffer, Festschrift z. 60. Geburtstag Robert Kochs, **1903**, Jena (Fischer).
703. Smirnow, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 4, S. 231, **1888**.
704. Trommsdorff, Arch. f. Hyg., Bd. 39, S. 31, **1901**.
705. Cohn, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 45, S. 61, **1903**.
706. Müller, P. Th., Münch. med. Wochenschr., **1903**, p. 56.
707. Wassermann & Ostertag, Monatsschr. f. prakt. Tierheilk., Bd. 13.
708. Walker, Journ. of Path. and Bact., Vol. 7, Nr. 3, **1901**.
709. Lipstein, Deutsche med. Wochenschr., **1902**, S. 821.
710. Bordet, Ann. Inst. Pasteur, T. 6, p. 328, **1892**.
711. Silberberg & Seliony, Ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, S. 422, **1903**.
712. Deutsch, Centralbl. f. Bakt., **1903**.
713. Deutsch & Feistmantel, Die Impfstoffe und Sera, Leipzig **1903**.
714. Löhlein, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 38, Beiheft, S. 32, **1906**.
715. Metschnikoff, Virch. Arch., **1884**.
716. Sawtschenko, Ann. Pasteur, T. 11, **1897**.
717. Heim, Münch. med. Wochenschr., **1904**.
718. — Arch. f. Hyg., Bd. 40, S. 55, **1901**.
719. Migula, System. d. Bakterien, Bd. 1, p. 57.
720. Binaghi, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 4, **1898**.
721. Bail, Wien. klin. Wochenschr., **1906**.
722. — Centralbl. f. Bakt., Bd. 46, S. 488, **1908**.
723. Stiennon, Compt. rend. soc. Biol., Bd. 62, **1907**.
724. Ascoli, Centralbl. f. Bakt., Bd. 46, S. 178, **1908**.
725. Preisz, ebd., Bd. 44, S. 209, **1907**.
726. Eisenberg, ebd., Bd. 47, S. 415, **1908**.
726[a]. — ebd., Bd. 45, S. 44, 134, 638, **1908**.
727. Fischöder, ebd., Bd. 51, S. 320, **1909**.
728. Preisz, ebd., Bd. 49, S. 341, **1909**.
729. Bail & Rubritius, ebd., Bd. 43, S. 641, **1907**.
730. Kühnemann, ebd., Bd. 57, S. 497, **1911**.
731. Hektoen, Journ. of the Americ. Med. Assoc., **1906**.
732. — Centralbl. f. Bakt., Bd. 44, S. 456, **1907**.
733. Tsuda, ebd., Bd. 46, S. 502, **1908**.
734. Bezzola, ebd., Bd. 48, S. 36, **1909**.
735. Tsuda, ebd., Bd. 48, S. 194, **1909**.
736. Emmerich & Löw, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 31, S. 1, **1899**.
737. — — ebd., Bd. 36, S. 9, **1901**.
738. Woodhead & Wood, Lancet, **1890**, p. 393.
739. Charrin & Guignard, Compt. rend. d. l. soc. d. biol., T. 108, p. 764.
740. Müller, Centralbl. f. Bakt., Bd. 28, S. 577, **1900**.
741. Walker, ebd., Bd. 24, S. 429, **1901**.
742. Dietrich, Habilitationsschrift, Braunschweig **1901**.
743. Klimoff, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37, S. 115, **1901**.
744. Emmerich, Löw, Korschun, Centralbl. f. Bakt., Bd. 31, S. 1, **1902**.
745. Dietrich, ebd., S. 165.
746. Emmerich, ebd., S. 585.
747. Vaerst, ebd., S. 293.
748. Tavernari, ebd. S. 786.
749. Thönessen, ebd., Bd. 32, S. 823, **1902**.
750. Greithe, Inaug.-Dissert. Bern **1902**.
751. Danyscz, Ann. Pasteur, T. 14, p. 641, **1900**.
752. Behring, Centralbl. f. klin. Med., **1888**, Nr. 38.
753. Pane, Rivista clinic. et therapeutic., **1892**, Nr. 12.
754. Zagari, Giorn. internat. d. scienze med., **1892**, p. 801.
755. Innocente, ebd.
756. v. Fodor, Centralbl. f. Bakt., Bd. 7, S. 7, **1891**.
757. — ebd., Bd. 16, S. 783, **1894**.
758. — ebd., Bd. 17, S. 225, **1895**.
759. Calabrese, Giorn. internaz. d. scienze med., **1895**, Nr. 5.
759[a]. — ibid., Nr. 22.
760. Poehl, Deutsche med. Wochenschr., **1895**, S. 568.
761. Löwit, Zieglers Beiträge z. pathol. Anat., Bd. 22, S. 172, **1897**.
762. Chor, Ann. Pasteur, **1891**, p. 337.
763. Behring, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 9, S. 395, **1890**.

764. v. Fodor, Centralbl. f. Bakt., Bd. 21, S. 134, **1897**.
765. Riegler, ebd., S. 134.
766. Gamaleïa, Ann. Pasteur, T. 2, p. 517, **1888**.
767. Behring, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 6, S. 107, **1889**.
768. Christmas, Ann. Pasteur, T. 5, S. 487, **1891**.
769. Emmerich, Centralbl. f. Bakt., Bd. 12, S. 364, 417, **1892**.
770. Tsuboi, ebd.
771. Steinmetz, ebd.
772. Löw, ebd., S. 361.
773. Buchner, ebd., S. 885.
774. Emmerich, ebd., Bd. 13, S. 575, **1893**.
775. Tsuboi, ebd.
776. Hamburger, ebd., Bd. 22, S. 403, **1897**.
777. — ebd., Bd. 24, S. 345, **1898**.
778. Spronck, Nederl. Tijdschr. f. Geneesk., Bd. 2, S. 379, **1897**.
779. Baumgarten, Berl. klin. Wochenschr., **1899**, S. 893.
780. — ebd., **1900**, S. 133.
781. — ebd., **1901**, Nr. 50.
782. — Festschrift z. 60. Geburtstag Jaffés, **1901**, S. 277 (Braunschweig).
783. — Berl. klin. Wochenschr., **1902**, S. 997.
784. Jetter, Arb. a. d. path. Inst. Tübingen, herausg. v. Baumgarten, Bd. 1, **1892**.
784[a]. — Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 14, S. 724, **1893**.
785. Walz, Habilitationsschrift, Tübingen **1899**.
786. Finkh, Centralbl. f. Bakt., Bd. 28, S. 694, **1900**.
787. — Arb. a. d. path. Inst. Tübingen, Bd. 4, S. 1, **1902**.
788. Fischer, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 35, S. 1, **1900**.
789. Focker, Centralbl. f. Bakt., Bd. 31, S. 524, **1902**.
790. Metschnikoff, Ann. Pasteur, T. 3, p. 664, **1889**.
791. Christmas, ibid., T. 5, p. 487, **1891**.
792. Székely, Verhandl. d. VIII. intern. Kongr. f. Hyg., **1894**, Budapest, S. 40.
793. Petruschky, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 7, S. 75, **1889**.
793[a]. — Zieglers Beiträge, Bd. 3, S. 357, **1888**.
794. Fahrenholz, Inaug.-Diss. Königsberg **1889**.
795. Czaplewski, Inaug.-Diss. Königsberg **1889**.
795[a]. — Zeitschr. f. Hyg., Bd. 12, S. 348, **1892**.
796. Roser, Beiträge zur Biologie niederer Organismen, Marburg **1881**.
797. Denys, La Cellule, **1893**.
798. Kaisin, ebd.
799. Hegeler, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37, S. 115, **1901**.
800. Petterson, Centralbl. f. Bakt., Bd. 30, S. 726, **1901**.
801. v. Lingelsheim, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37, S. 131, **1901**.

V.

Bakteriotropine und Opsonine.

Von

F. Neufeld.

Einleitung.

Seit METSCHNIKOFF auf Grund seiner klassischen Untersuchungen über die Hefekrankheit der Daphnien im Jahre 1884 seine Theorie der Phagocytose als Ursache der Immunität aufstellte, ist die „Phagocytentheorie" wohl länger als irgendein anderes Problem der Immunitätslehre Gegenstand der leidenschaftlichsten wissenschaftlichen Kontroverse geblieben; neben enthusiastischer Zustimmung hat sie lange Zeit hindurch seitens hervorragender Forscher eine unbedingte Ablehnung erfahren. Wenn sich jetzt unverkennbar eine Wandlung vollzogen hat, die wohl in absehbarer Zeit über alle Hauptfragen eine Einigung der früher schroff gegenüberstehenden Ansichten erhoffen läßt, so ist der Grund dafür einmal darin zu suchen, daß sich den Immunitätsforschern, je weiter unsere Kenntnisse fortschreiten, um so notwendiger die Ueberzeugung aufdrängte, daß sich die mannigfaltigen Erscheinungen der Immunität unmöglich alle auf dieselbe Weise erklären lassen, daß also auch die Phagocytose ebenso wie die Bakteriolyse nur eine der mannigfachen Abwehrreaktionen des Organismus darstellt.

Vor allem aber hat man erkannt, daß zwischen „humoraler" und „cellulärer" Immunitätstheorie kein Gegensatz, sondern vielmehr ein inniger Zusammenhang besteht, indem nämlich die Phagocytose in den allermeisten Fällen erst durch Vermittlung besonderer Serumstoffe eintritt; insbesondere ist das bei der erworbenen Immunität wohl ausnahmslos der Fall. Hier ist also — und dies bildet einen grundlegenden Unterschied unserer jetzigen Anschauungen gegenüber der ursprünglichen Theorie METSCHNIKOFFS — die Spezifität bei den phagocytären Vorgängen genau so wie bei den antitoxischen und bakteriolytischen Vorgängen auf gelöste Serumstoffe, nicht auf ein geheimnisvolles Wahlvermögen amöboider Zellen zurückzuführen. Müßig erscheint mir dagegen die Frage, ob in diesem Falle das Serum oder die Phagocyten den Hauptfaktor bei der Vernichtung der Keime darstellen; es sind eben beide gleich unentbehrlich dazu.

Die ersten grundlegenden Beobachtungen über die Rolle, welche dem Serum bei der Phagocytose zukommt, wurden im Jahre 1895 von DENYS in Gemeinschaft mit LECLEF angestellt. Diese Beob-

achtungen wurden ermöglicht durch eine neu geschaffene Technik, die sich in der Folge als außerordentlich bedeutungsvoll erwiesen hat, nämlich durch den Phagocytoseversuch im Reagenzglase, bei welchem aus dem Tierkörper entnommene, überlebende Leukocyten mit Bakterien und Serum in verschiedenen Kombinationen zusammengebracht wurden. Es zeigte sich, daß die isolierten Leukocyten die ihnen im lebenden Tierkörper zukommende Fähigkeit zur Phagocytose auch noch im Reagenzglase besitzen; hiermit war die Möglichkeit gegeben, über eine Anzahl prinzipiell wichtiger, bis dahin strittiger Fragen Aufschluß zu erhalten.

Zunächst prüften Denys & Leclef die Anschauung Metschnikoffs nach, wonach im Verlaufe der Immunisierung gegen gewisse Krankheitserreger eine „Erziehung" der Leukocyten eintreten soll, so daß die Zellen es allmählich „lernen", den Kampf mit den pathogenen Mikroorganismen mit Erfolg aufzunehmen. Es ergab sich bei gegen Streptokokken immunisierten Tieren das eindeutige Resultat, daß die Leukocyten immunisierter Tiere den Streptokokken gegenüber ebensowenig eine Freßtätigkeit ausübten, wie die Leukocyten normaler Tiere; eine solche trat jedoch in ausgesprochenster Weise ein, sobald etwas Serum eines immunen Tieres hinzugefügt wurde, — dann war es jedoch völlig gleichgültig, ob die verwendeten Leukocyten von einem immunen oder einem normalen Tiere stammten.

Weitere Beobachtungen von Denys und seinen Schülern Marchand und Mennes bezogen sich auf die Verarbeitung der aufgenommenen Kokken im Innern der Phagocyten, ferner auf die entscheidende Rolle, die der Virulenz der Kokken bei ihrem Verhalten gegenüber den Zellen zukommt; bezüglich der Pneumokokkenimmunität wurden analoge Verhältnisse wie bei den Streptokokken festgestellt.

Trotzdem die Analogie zwischen den von Denys im Reagenzglas und den schon lange vorher von Metschnikoff u. a. im Tierkörper beobachteten Vorgängen eine ganz überraschende war, trug Metschnikoff doch zunächst Bedenken, die Gültigkeit der in vitro festgestellten Gesetzmäßigkeiten für die Verhältnisse im lebenden Tier anzuerkennen. In Deutschland herrschte damals im allgemeinen wenig Interesse für die Phagocytoselehre überhaupt, und so kam es, daß die bedeutsamen Entdeckungen Denys zunächst nicht die verdiente Beachtung fanden, und daß das von ihm begonnene Werk erst nach einer Reihe von Jahren wieder aufgenommen wurde.

Dabei ergab sich zunächst die Aufgabe, die Befunde Denys' mit der inzwischen hauptsächlich durch Ehrlich begründeten Immunitätstheorie in Beziehung zu bringen. Durch den Bindungsversuch nach Ehrlich-Morgenroth ließ sich feststellen, daß die Antikörper des Strepto- und Pneumokokkenimmunserums nicht an die Leukocyten, sondern ausschließlich an die zugehörigen Bakterien verankert werden: die Wirkung dieser Sera beruht also nicht, wie die Metschnikoffsche Schule bis dahin behauptet hatte, auf einer „Stimulierung" der Phagocyten, sondern auf einer Veränderung der Bakterien, welche sekundär eine Phagocytose zur Folge hat. Indem diese Auffassung gestattete, die phagocytoseauslösenden Antikörper zwanglos mit sonstigen Antistoffen des Serums in Parallele zu stellen, ergab sich sogleich die weitere Frage, ob sie mit den bis dahin bekannten Serumstoffen identisch, oder ob sie als eine neue, eigene Art

von Antikörpern anzusehen sind. Insbesondere wurde die Frage nach dem Verhältnis der Bakteriotropine — diese Bezeichnung wurde den von Denys entdeckten, thermostabilen Immunkörpern später beigelegt — zu den bakteriziden Ambozeptoren erörtert.

Die Mehrzahl der Untersucher neigt jetzt dazu, die Tropine und die lytischen Ambozeptoren als verschiedene, voneinander unabhängige Antikörper aufzufassen, eine völlige Einigung ist jedoch trotz zahlreicher Untersuchungen über diese Frage ebensowenig wie über die ähnliche Frage nach den Beziehungen zwischen den bei der Präzipitation, Komplementablenkung und Anaphylaxie beteiligten Antikörpern zustande gekommen. Als gesichertes Ergebnis darf dagegen die Erkenntnis angesehen werden, daß die Phagocytose der durch bakteriotrope Immunsera „sensibilisierten" Bakterien nicht etwa eine Begleiterscheinung der Bakteriolyse, eine verhältnismäßig belanglose und gewissermaßen selbstverständliche Folge des Absterbe- und Auflösungsprozesses der Bakterienzelle ist, sondern daß beide Abwehrreaktionen des Organismus, wenn sie auch oft durch die gleichen Immunsera ausgelöst bzw. verstärkt werden, als gleichberechtigte und voneinander unabhängige Faktoren anzusehen sind.

Offenbar ohne Kenntnis von den klassischen Versuchen Denys' entdeckte Leishman 1902 eine Methode, die es gestattet, die Phagocytose an den Leukocyten eines frisch vom Menschen entnommenen Blutstropfens zu beobachten. Den Grad der Phagocytose stellte Leishman durch Zählung der gefressenen Bakterien bei einer größeren Anzahl von Phagocyten fest; er fand bei vergleichenden Untersuchungen eine deutliche Verstärkung der Phagocytose (von Staphylokokken) im Blut von spezifisch behandelten Personen und legte damit die Grundlage zur klinischen Verwertung seiner Methode. Wright & Douglas bildeten diese Methode weiter aus und untersuchten in eingehendster Weise die phagocytoseerregende Wirkung des menschlichen Serums gegenüber einer Reihe von Mikroorganismen. Sie fanden, daß das frische Serum die Phagocytose gegenüber vielen Bakterien in hohem Grade befördert, daß diese Eigenschaft des Serums aber beim Erhitzen auf 55—60° verloren geht. Die thermolabilen Stoffe, welche diese Wirkung hervorrufen, wirken auf die Bakterien, indem sie diese in bestimmter Weise verändern; diese Stoffe bezeichnen Wright & Douglas als Opsonine (nach dem griechischen opsoneo: ich bereite zur Nahrung vor). Die Autoren fanden weiter, daß der Opsoningehalt des Serums gesunder Menschen nur innerhalb enger Grenzen schwankt, daß dagegen bei Behandlung mit „Vaccinen" (Tuberkulinpräparaten, abgetöteten Staphylokokken) in vielen Fällen eine Vermehrung dieser Stoffe auftritt, während dieselben im Serum von unbehandelten Kranken teils ebenfalls in vermehrter, teils auch in verminderter Konzentration gefunden wurden. Hieraus folgerten sie die Möglichkeit, die Opsonine in praktisch klinischer Hinsicht, nämlich zur Ergänzung der Diagnose und der Prognose, sowie zur Kontrolle der immunisatorischen Behandlung von Krankheiten zu verwerten.

Da die Schwankungen im menschlichen Serum in der Regel nur geringe sind, so legte Wright den größten Wert darauf, durch Zählung der durchschnittlich von einem Leukocyten aufgenommenen Bakterien, wie das schon von Leishman angegeben war, die Wirkung eines Serums quantitativ genau zu bestimmen.

Die weitgehenden Hoffnungen, die Wright und seine Schule an die praktische Verwertung des „opsonischen Index“ knüpften, haben sich nicht erfüllt. Die Grundlage für die „opsonische Behandlung“ einer Reihe von Infektionskrankheiten, vor allem der Tuberkulose, bildet die Annahme, daß der opsonische Index der Ausdruck des bestehenden Immunitätsgrades sei: Der abnorm niedrige Index sollte nach Wright & Douglas die direkte Ursache der Erkrankung, die Hebung des Index das Ziel der spezifischen Behandlung und der Index der Maßstab des Erreichten sein. Wright selbst hat niemals den Versuch gemacht, diesen Hypothesen durch das Tierexperiment eine sichere Grundlage zu geben. Dagegen haben die Versuche von Ungermann u. a. unzweideutig gezeigt, daß selbst so ausgesprochene Unterschiede in der natürlichen Empfänglichkeit, wie sie für menschliche Tuberkelbacillen einerseits und Perlsuchtbacillen andererseits bei Menschen und bei Rindern bestehen, in dem opsonischen Index absolut nicht zum Ausdruck kommen. Ebensowenig wie für die natürliche gibt der Index nach Ungermann für die erworbene Immunität bei der Tuberkulose einen Maßstab.

In der Praxis ist man jetzt wohl allerseits zu der Ueberzeugung gekommen, daß die anfangs von manchen als unerläßlich angesehenen Indexbestimmungen während einer spezifischen Kur in der Tat entbehrlich sind, und ebensowenig hat sich die Indexuntersuchung zu diagnostischen Zwecken einzubürgern vermocht, obwohl ihr für gewisse Fälle vielleicht ein Wert zukommt. Damit hat auch die eine Zeitlang viel erörterte Frage, mit welchem Grade von Genauigkeit der „Index“ sich ziffernmäßig feststellen läßt, erheblich an Interesse eingebüßt.

Zweifellos haben aber die Wreightschen Arbeiten, zum Teil wohl gerade wegen der weitgehenden praktischen Konsequenzen, die der Autor daraus ziehen zu können glaubte, mächtig dazu beigetragen, der Phagocytoselehre die ihr früher von vielen Seiten versagte Anerkennung zu erringen. Das bedeutsamste Ergebnis der Wrightschen Forschungen ist wohl die Entdeckung der Normalopsonine, denen wir die größte Bedeutung für die natürliche Immunität zuschreiben müssen.

Wenn die neuere Phagocytoselehre dazu geführt hat, in manchen grundlegenden Punkten die von der Metschnikoffschen Schule lange festgehaltenen Anschauungen durch andere zu ersetzen, die sich in den Rahmen der durch Behring, Ehrlich, Pfeiffer u. a. begründeten Theorien einfügen, so werden wir darüber nicht vergessen dürfen, daß im Grunde doch alle diese Bestrebungen auf den genialen, grundlegenden Entdeckungen Metschnikoffs weiterbauen, und werden Ehrlich beistimmen, wenn er sagt, daß in den neueren Forschungen die Phagocytoselehre Metschnikoffs eine neue Blüte erlebt.

Die Bedeutung der Phagocytose und der phagocytosebefördernden Serumstoffe für die Immunität.

Das Vorkommen der phagocytären Serumstoffe ist ein sehr allgemeines: bereits das Normalserum des Menschen und der darauf untersuchten Tiere enthält solche Stoffe gegenüber sehr zahlreichen Bakterienarten und durch immunisatorische Behandlung lassen sich

gegen fast alle Mikroorganismen, soweit darüber Versuche vorliegen, stark phagocytoseerregende Antikörper erzeugen; dies gilt nicht nur für Bakterien, sondern nach neueren Feststellungen auch für gewisse Trypanosomen- und Spirochätenarten. Es bedeutet jedoch, wie weiter unten noch zu besprechen sein wird, das Vorhandensein dieser Antistoffe nicht ohne weiteres einen genügenden Schutz für den Organismus. In manchen Fällen vermögen nämlich die Bakterien sich durch Bildung von Kapseln gegen die Serumeinwirkung zu schützen; dies ist nach v. Gruber, Löhlein, Markl u. a. bei Milzbrand- und Pestbacillen gegenüber den Normalopsoninen verschiedener Tierarten der Fall; ein ähnliches Verhalten gegenüber Tropinen ist bisher noch nicht beschrieben worden. Weiterhin ist aber zu berücksichtigen, daß die Phagocytose zwar bei den meisten, aber durchaus nicht bei allen Bakterien auch zur Abtötung der gefressenen Keime führt, so hat sich z. B. eine Abtötung der phagocytierten Tuberkelbacillen bisher nicht nachweisen lassen; in diesen Fällen genügt natürlich die Phagocytose nicht, um die Heilung herbeizuführen.

Dennoch dürfen wir meines Erachtens auch in diesen Fällen die Phagocytose als einen für den erkrankten Organismus höchst zweckmäßigen Vorgang ansehen, indem sie ihn vor der Vergiftung schützt, und zwar nicht nur vor den spezifischen Toxinen und Endotoxinen des betreffenden Bacillus, sondern auch, worauf Neufeld & Dold hingewiesen haben, vor der Bildung nichtspezifischer Giftstoffe, deren Entstehen überall da zu erwarten ist, wo Bakterien frei im Blute kreisen oder sonst dem Kontakt mit Körpersäften ausgesetzt sind (sogenanntes „anaphylaktisches Gift"). Auch in dieser Hinsicht scheint die Phagocytose von der größten Wichtigkeit zu sein; in allen Fällen, wo sie versagt, sind schwere allgemeine Vergiftungserscheinungen die Folge, gleichviel um welche Art von Mikroorganismen es sich handelt. Wenn man gewisse Bakterienarten, wie die Tuberkel- und Leprabacillen, oft als relativ ungiftig bezeichnet, so erklärt sich die mangelnde Giftwirkung zum Teil wohl einfach dadurch, daß diese Bacillen fast stets intracellulär liegen.

Die weit überwiegende Mehrzahl der Bakterien wird aber innerhalb der Phagocyten aufgelöst, und zwar, wie unten ausgeführt werden wird, ohne Hilfe miteingeführter Serumlysine. Bei geeigneten Objekten, wie Trypanosomen, läßt sich sogar die Aufnahme der lebenden Mikroorganismen und ihre Abtötung im Phagocyten nach Levaditi & Mutermilch direkt beobachten. In denjenigen Fällen, wo das Serum gleichzeitig bakteriolytisch wirkt, wie z. B. bei Choleravibrionen, wird es natürlich häufig vorkommen, daß die Leukocyten auch die Reste der bereits im Serum abgetöteten Bakterien aufnehmen und weiter verarbeiten.

Was die natürliche Immunität betrifft, so scheint dabei der opsonischen Serumwirkung eine weit größere Rolle zuzukommen, als der bakteriolytischen. Gegenüber einer großen Anzahl von Bakterienarten, auch von avirulenten, ist uns bisher eine bakterizide Wirkung des Normalserums überhaupt nicht bekannt, in anderen Fällen steht dieselbe in bezug auf die Intensität und Schnelligkeit der Bakterienvernichtung weit hinter der opsonischen Wirkung zurück; auch bedarf es anscheinend fast stets zur Opsonin-

wirkung geringerer Menge von komplementhaltigem Serum als zur Lyse.

Bei der erworbenen Immunität sehen wir in einer Reihe von Fällen, wie bei der Immunisierung gegen Streptokokken, Pneumokokken, Rotlaufbacillen, und wie es scheint, auch gegen Meningokokken nur Tropine, aber keine spezifischen Lysine auftreten. Im übrigen sei auf die nachfolgenden speziellen Angaben verwiesen; aus denselben geht hervor, daß auch bei der erworbenen Immunität den phagocytären Vorgängen eine mindestens ebenso allgemeine Bedeutung wie den lytischen zukommt.

Allgemeine Uebereinstimmung herrscht wohl darüber, daß die Phagocytose insofern für den Organismus besonders vorteilhaft ist, als sie gleichzeitig die Bakterien entgiftet.

Zu bedenken ist natürlich, daß für die Phagocytose im Tierkörper nicht nur, wie bei unseren Versuchen in vitro, die Leukocyten in Betracht kommen, sondern daß sich auch Endothel- und Organzellen vielfach beteiligen, über deren Besonderheiten wir nur wenig unterrichtet sind (vgl. die Versuche von Landsteiner mit Knochenmark- und von Briscoe mit Lungenalveolarzellen).

Bei aller Bedeutung, die wir der Phagocytose zuschreiben, wäre es jedoch eine unberechtigte Verallgemeinerung, jede antibakterielle Immunität, soweit sie nicht auf bakteriziden Ambozeptoren beruht, als phagocytär erklären zu wollen; eine solche Auffassung würde der Mannigfaltigkeit der Immunitätserscheinung nicht genügend Rechnung tragen. Zunächst sehen wir in gewissen Fällen, so bei Hühnercholera, Pest, Milzbrand, die deutlichen Erscheinungen der aktiven und passiven Immunität auftreten, ohne daß es wenigstens bisher gelungen ist, dieselben auf Lysine, Tropine oder Immunopsonine zurückzuführen. Für die erworbene Immunität des Meerschweinchens gegen eine Mäuetyphusstamm konnte Landsteiner weder eine gesteigerte Phagocytose, noch lytische Ambozeptoren als Ursache nachweisen, dagegen ergab sich eine stark extracelluläre Abtötung der Keime in vitro in einem Gemisch von Immunserum und leukocytenhaltigem Exsudat; es schien dabei eine komplexe Wirkung, bei der ein Leukocytensekret beteiligt war, vorzuliegen.

Neuerdings haben die eingehenden Untersuchungen von v. Gruber, Schneider, Much, Weil und seinen Mitarbeitern gezeigt, daß Leukocyten und Blutplättchen eigenartige bakterizide Stoffe (Leukine, Plakine) sezernieren können, die mit dem Komplement nichts zu tun haben und die gegenüber einer Reihe von Bakterien, wenigstens was die natürliche Immunität betrifft, eine wichtige Rolle zu spielen scheinen („aphagocide Leukocytenwirkung“ nach Weil). Die nach Much, Dold, Seiffert für die normale Resistenz bedeutungsvollen thermostabilen „Plasmastoffe“ sind vielleicht mit den Leukinen identisch.

In jedem Falle wird man die Vielseitigkeit der Immunitätsvorgänge in Betracht zu ziehen haben und die phagocytäre Serumwirkung nur da als ausschlaggebend ansehen dürfen, wo sich ihre Bedeutung durch Beobachtungen in vivo und in vitro eindeutig nachweisen läßt.

Je mehr wir uns davor hüten, die für eine Reihe von Einzelfällen sicher erwiesene Rolle der Phagocytose vor-

eilig auf andere Verhältnisse zu übertragen, und je mehr wir an der klassischen Methode von Denys festhalten, welche in den Versuchen in vitro das Abbild der Vorgänge in vivo sucht und beide Arten der Beobachtung in gegenseitiger Kontrolle nebeneinander verwendet, um so weniger werden wir Gefahr laufen, die der Phagocytenlehre endlich errungene allgemeine Anerkennung durch einen abermaligen Rückschlag der Anschauungen wieder in Frage gestellt zu sehen.

Spontanphagocytose.

Die ursprüngliche Anschauung von Metschnikoff, wonach die Phagocyten befähigt sind, Bakterien ohne weiteres, d. h. ohne Präparation durch gelöste Serumstoffe aufzunehmen, besteht für gewisse Fälle zweifellos zu Recht; aber erst der Phagocytoseversuch in vitro hat uns in den Stand gesetzt, zu entscheiden, in welchen Fällen dies zutrifft, denn im Tierversuch ist ja die Mitwirkung von Serumstoffen begreiflicherweise nie auszuschließen.

Die Versuche von Löhlein, Dean, Hectoen, Wright & Reid, Neufeld & Hüne haben entgegen der ursprünglichen Annahme von Wright & Douglas gezeigt, daß bestimmte Bakterienstämme auch dann von Leukocyten stark gefressen werden, wenn sie in physiologischer Kochsalzlösung oder in dem für viele Fälle ebenso indifferenten inaktiven Normalserum suspendiert werden, nachdem durch 6—8-maliges Waschen in Kochsalzlösung jede Spur des etwa aus der Peritonealflüssigkeit anhaftenden Komplements entfernt ist. Die Annahme Löhleins, daß in diesen Fällen etwa aus den Leukocyten ein Opsonin abgegeben wird, und daß die Opsonine überhaupt aus den Leukocyten herstammen, ist unhaltbar, denn sonst müßte eine Spontanphagocytose doch wohl bei allen Bakterienarten, die der Opsoninwirkung überhaupt zugänglich sind, eintreten, was keineswegs der Fall ist. Durch Versuche von Schneider ist ferner erwiesen, daß selbst bakterizide Leukocytensekrete kein Opsonin enthalten; ebensowenig wirken nach Neumann Leukocyten*extrakte*, nach Ohtaki die „Plakine“ opsonisch. Nach neueren Befunden (Much, Dold) enthält das Serum und in noch in höherem Grade das Plasma von Meerschweinchen und von Menschen thermostabile bekterizide Stoffe gegenüber Pneumokokken, die vermutlich von den Leukocyten sezerniert sind, während im *Kaninchen*plasma diese Stoffe absolut fehlen; trotzdem sezernieren die Meerschweinchen- (und Menschen-) Leukocyten nicht etwa ein Opsonin gegen virulente Pneumokokken. (Die in Rede stehenden „Plasmastoffe“ wirken nach Dold merkwürdigerweise auf virulente Kokken stärker schädigend als auf avirulente).

Bekanntlich ist man jetzt ja auch allgemein von der Ansicht zurückgekommen, daß die Leukocyten *Komplement* sezernieren.

Nun hat sich gezeigt, daß sowohl im Tierexperiment wie im Reagenzglasversuch sehr oft die virulenten Stämme von den Phagocyten unberührt bleiben, während die avirulenten lebhaft aufgenommen werden. Auch in dieser Hinsicht verdanken wir Denys und seinem Schüler Marchand die grundlegenden Versuche.

Denys und Marchand fanden beim Vergleich eines hochvirulenten und eines avirulenten Streptococcus, daß der erstere nur bei Zusatz von spezifischem Serum phagocytiert wurde, während der letztere auch in den Kontrollpräparaten stark gefressen wurde. Dies entspricht völlig dem Verhalten im Tierkörper.

Später sind von vielen Beobachtern entsprechende Befunde mitgeteilt worden, und es ist heute allgemein anerkannt, daß der Virulenzgrad der benutzten Kulturen von der größten Wichtigkeit für alle Phagocytoseversuche ist.

Bei Cholera und Typhus fanden Neufeld & Hüne, daß avirulente Stämme oft so starke Spontanphagocytose zeigten, daß sie zu Phagocytoseversuchen nicht verwendbar waren, während virulente Stämme in den Kontrollpräparaten der Phagocytose weit weniger unterlagen. Eine avirulente Cholerakultur, die zunächst ohne Serumzusatz sehr stark gefressen wurde, zeigte, nachdem sie durch Tierpassagen virulent gemacht worden war, ein ganz entgegengesetztes Verhalten. Die Virulenzschwankungen gingen nur innerhalb gewisser Grenzen mit dem Verhalten der Stämme zu den Phagocyten parallel; ähnliches läßt sich ja auch im Tierkörper beobachten. Weiter haben die Beziehung der Virulenz zur Phagocytose Dean, Bail & Rubritius an Typhusbacillen, Löhlein bei verschiedenen Colistämmen, Hectoen, Rosenow, Bürgers, Strouse, Ungermann u. a. bei Strepto- und Pneumokokken untersucht.

Man darf jedoch nicht etwa erwarten, daß alle avirulenten Bakterien der spontanen Phagocytose unterliegen müßten; vielmehr bedürfen sehr viele Bakterienarten dazu erst der Präparation durch die Opsonine des Normalserums und auch bei ein und derselben Bakterienart finden sich Unterschiede, indem z. B. gewisse avirulente Pneumokokkenstämme erst unter dem Einfluß von Opsonin, andere dagegen bereits spontan gefressen werden (vgl. unten).

In manchen Fällen sehen wir auch hochvirulente Bakterien der Spontanphagocytose in hohem Grade anheimfallen. Dies ist in sehr auffallender Weise bei den Tuberkelbacillen der Fall, entsprechend dem Verhalten im Tierexperiment, ferner bei Milzbrandbacillen, soweit sie nicht mit einer Kapsel versehen sind (v. Gruber & Futaki).

Manche Bakterien, wie die Diphtheriebacillen, zeigen ein sehr wechselndes Verhalten, nämlich teils so starke Spontanphagocytose in den Kontrollröhrchen mit Kochsalzlösung, daß sich eine spezifische Serumwirkung nur schwer feststellen läßt, teils fast völlig „reine“ Kontrollen, d. h. Ausbleiben jeder Phagocytose (Tunicliff, Böhme, Ohkubo, Lindemann); dabei spielt nach Lindemann hier weniger die Virulenz, als vielmehr der Nährboden auf dem der betreffende Stamm fortgepflanzt wird, eine Rolle.

Die Spontanphagocytose ist, wie später noch ausgeführt werden wird, nicht etwa die Folge des beginnenden Absterbens des Bakteriums.

In manchen Fällen sind dabei offenbar osmotische Einflüsse von großer Bedeutung. So fanden Wright & Reid einen starken Einfluß der Salzkonzentration auf die Spontanphagocytose von Tuberkelbacillen; dieselbe war in einer 0,6-proz. Kochsalzlösung am stärksten und sank bei steigendem Salzgehalt, so daß in einer Kochsalzlösung von 1,2 Proz. und darüber fast gar keine Spontanphagocytose bemerkbar war. Da die Opsoninwirkung des normalen sowie

des spezifischen Serums noch bei stärkerer Salzkonzentration eintrat, so hat WRIGHT zu den Versuchen mit Tuberkelbacillen die Benutzung einer 2-proz., später, da ein so hoher Salzgehalt die Tätigkeit der Phagocyten hemmte, einer 1,5-proz. Kochsalzlösung empfohlen.

In ähnlicher Weise vermochte PORGES die Spontanphagocytose von Stärkekörnchen durch Erhöhung der Salzkonzentration einzuschränken.

Einteilung der phagocytären Serumstoffe.

Die phagocytären Antikörper der Normal- und Immunsera lassen sich in zwei Klassen einteilen, die Tropine, welche einfach gebaute Stoffe darstellen, die der Mitwirkung eines Komplementes nicht bedürfen und daher auch im inaktivierten Serum erhalten bleiben, und die komplexen Opsonine, bei denen ebenso wie bei den Bakterio- und Hämolysinen ein Zusammenwirken von Ambozeptor und Komplement stattfindet; die opsonische Wirkung eines Serums verschwindet daher bei der Inaktivierung völlig; kann aber durch Zufügen von Komplement wieder hergestellt werden.

Beide Arten von Serumstoffen wirken auf die Bakterien derart ein, daß dieselben, ohne irgendeine Schädigung oder sichtliche Veränderung zu erleiden, von den Phagocyten lebhaft aufgenommen worden.

Vielfach hat man die Tropine, da sie hauptsächlich, wenn auch nicht ausschließlich, im Immunserum vorkommen, als Immunopsonine bezeichnet, doch ist diese Nomenklatur, die sich insbesondere bei englischen Autoren häufig findet, insofern wenig glücklich, weil sich in vielen Immunsera neben den Tropinen auch Immunopsonine im eigentlichen Sinne, d. h. komplex gebaute phagocytosebefördernde Immunstoffe finden.

Die Unterscheidung zwischen Tropinen und Opsoninen, wie sie hier in Uebereinstimmung mit v. GRUBER und der überwiegenden Mehrheit der deutschen Autoren durchgeführt ist, ist auch praktisch von Wichtigkeit, weil die Tropine im Gegensatz zu den Opsoninen (und den Lysinen) auch da zur Wirkung kommen können, wo, wie es wohl an vielen Stellen der Fall ist, freies Komplement nicht oder wenigstens nicht in erheblicher Menge vorhanden ist. Dies trifft z. B. nach MC KENZIE & MARTIN, HOUSTON, CIUCA für die Lumbalflüssigkeit von Meningitiskranken zu; es ist daher praktisch wichtig zu unterscheiden, ob die phagocytären Antikörper des Meningitisserums den Charakter von Tropinen oder von Immunopsoninen bzw. opsonischen Immunambozeptoren haben. Die Bedeutung der Tropine wird entschieden dadurch erhöht, daß sie die einzigen der bisher bekannten antiinfektiösen Immunstoffe sind, die der Mitwirkung eines Komplementes nicht bedürfen.

Prinzipien und Methodik des Phagocytoseversuches in vitro nach Denys-Leclef und Neufeld-Hüne.

Die in der Regel aus künstlich erzeugten Exsudaten entnommenen Leukocyten werden durch sorgfältiges Waschen von dem anhaftenden Serum befreit und in Kochsalzlösung suspendiert, von dieser Suspension wird eine kleine Menge, z. B. 0,1 mit einem oder einigen Tropfen der Bakterienaufschwemmung und abgestuften Mengen des zu untersuchenden Serums versetzt, das durch Ablagern, Karbolzusatz oder

Erhitzen von Komplement befreit sein muß; Kontrollröhrchen enthalten statt dessen komplementfreies Normalserum bzw. physiologische Kochsalzlösung. Nachdem die Mischung eine Zeitlang bei 37° gestanden hat, werden aus dem Bodensatz der Röhrchen gefärbte Präparate angefertigt: die geringste Konzentration des untersuchten Serums, in welcher noch im Vergleich mit den Kontrollröhrchen eine verstärkte Phagcytose deutlich erkennbar ist, bezeichnet den Titer des Serums. Die quantitative Bestimmung der phagocytosebefördernden Antistoffe geschieht also nach denselben Grundsätzen wie die Messung des Agglutinin- oder Lysingehaltes eines Serums. In bezug auf die Menge der Leukocyten und Bakterien, die Temperatur und Zeitdauer der Bebrütung usw. sind optimale Bedingungen zu wählen, d. h. solche, die einen möglichst scharfen Ausschlag zwischen den Kontrollen und den Röhrchen mit geringem Serumgehalt ergeben.

Will man anstatt auf Tropine auf Immunopsonine untersuchen, so wendet man dieselbe Technik an, nur daß man eine zweite Reihe von Röhrchen ansetzt, denen eine kleine, an sich nicht phagocytoseerregende Menge von Komplement zugesetzt wird (Neufeld & Bickel, Ohkubo u. a.). Auch zur Untersuchung auf Normalopsonine läßt sich dieselbe Technik sehr wohl verwenden, man benutzt dann natürlich frisches aktives Serum, und zwar vor allem unverdünnt, ferner in Verdünnungen von etwa $^1/_4$, $^1/_{10}$, $^1/_{20}$; dabei ist zu beachten, daß konzentriertes aktives Serum auf artfremde Leukocyten oft schädigend wirkt. Im folgenden sind die wichtigsten Punkte der einschlägigen Technik besprochen, in bezug auf Einzelheiten sei auf die ausführliche Darstellung von Neufeld & Ungermann in dem Handbuch von Kraus-Levaditi verwiesen. Nochmals sei besonders hervorgehoben, daß ein wesentliches Moment der Denysschen Methodik in dem steten Vergleich der Vorgänge in vitro mit denen in vivo liegt und daß daher der Tierversuch stets neben dem Reagenzglasversuch heranzuziehen ist.

Gewinnung der Leukocyten.

Denys & Leclef arbeiteten mit Leukocyten, die sie aus der Brusthöhle von Kaninchen entnahmen, die späteren Autoren benutzten meist Peritonealexsudate von Meerschweinchen, die durch Injektion von Aleuronat- oder ähnlichen Aufschwemmungen (Glutenkasein, Mellins food) oder auch von reiner Bouillon oder Kochsalzlösung (Kraus, Bächer) erzeugt waren. Neufeld, Rimpau und Töpfer fanden bei vergleichenden Untersuchungen die Verwendung von Meerschweinchenleukocyten aus dem Grunde vorteilhafter, weil sie hier seltener als bei Kaninchen schlecht bewegliche Zellen antrafen; dabei wurden die Exsudate von Tieren entnommen, die am Tage zuvor mit einer Aleuronataufschwemmung in Bouillon injiziert worden waren. Andere Autoren, wie Löhlein, Bächer, haben das Exsudat frühzeitiger, etwa 4 bis 8 Stunden nach der Injektion, entnommen. In der Regel, insbesondere zum Zweck größerer Versuchsreihen, wird man die Tiere zur Entnahme des Exsudates töten, doch kann man auch den lebenden Tieren mit einer Pravazspritze einen Teil des Exsudates entziehen, nachdem man zur Verdünnung vorher Kochsalz- oder Citratlösung injiziert hat; man kann dann dasselbe

Tier mehrfach zur Leukocytengewinnung benutzen (Ohkubo, Huggenberg). Bei Kaninchen injiziert man zur Gewinnung der Leukocyten am besten nach Ohkubo 50—100 ccm Peptonbouillon intraperitoneal; Mäuse liefern nach intraperitonealer Einspritzung von 1 ccm Aleuronatbouillon etwa 0,5 bis höchstens 1 ccm Exsudat (Ungermann).

Auch durch subkutane Injektion von Aleuronat oder ähnlichen Substanzen kann man brauchbare Leukocyten gewinnen (Neufeld & v. Prowazek).

Es muß dahingestellt bleiben, inwieweit die bei verschiedenen Entnahmen zu beobachtenden Schwankungen in der Aufnahmefähigkeit der Phagocyten auf individuelle Unterschiede, wie sie sich auch im Tierkörper zeigen, oder darauf zurückzuführen sind, daß die Zellen der künstlich erzeugten Exsudate gelegentlich in ihrer Leistungsfähigkeit beeinträchtigt sind.

Man muß in jedem Falle mit der etwas ungleichmäßigen Beschaffenheit der Leukocyten rechnen (in ähnlicher Weise, wie wir bei Hämolyseversuchen das jeweils benutzte Komplement als einen etwas variablen Faktor anzusehen gewohnt sind). Will man daher mehrere Sera in bezug auf ihren bakteriotropen Wert exakt vergleichen, so muß man die Prüfung entweder gleichzeitig mit denselben Leukocyten vornehmen, oder aber jedesmal ein Standardserum von bekannter Stärke mit benutzen (Neufeld & Hüne).

Will man mit menschlichen Leukocyten arbeiten, so werden meist die Leukocyten des zirkulierenden Blutes benutzt; die Gewinnung derselben geschieht dann nach der von Leishman, Wright & Douglas für die Opsoninuntersuchung geschaffenen Technik. Auch kann man menschliche Leukocyten aus einem frischen Abszeß (Neufeld & Rimpau), aus cystitischem Urin (Löwenstein), aus meningischem Exsudat (Davis), aus Urethralsekret bei Gonorrhoe (Löwenstein), sowie aus tuberkulösem Sputum, das mit Porzellanschrot geschüttelt wurde (Löwenstein), nach vorherigem Waschen mit physiologischer Lösung gewinnen. Vereinzelte fremde Bakterien, die in solchen Aufschwemmungen frei oder bereits phagocytiert enthalten sind, stören die Versuche nicht nennenswert.

Die Leukocyten sind durch ausgiebiges Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung von der anhaftenden Exsudatflüssigkeit zu befreien. Es ist dies ein prinzipiell wichtiger Punkt: da wir den Einfluß eines bestimmten Serums auf die Phagocytose prüfen wollen, so müssen wir die Anwesenheit von kleinen Mengen von anderem Serum und vor allem von Komplement ausschließen. In der Regel wird es genügen, die Zellen einmal zu waschen, doch kann man ohne Schaden das Waschen noch öfter wiederholen (Löhlein, Hamburger & Heckma, Bächer u. a.); zu lange fortgesetztes Zentrifugieren kann dagegen, wie die letztgenannten Autoren mit Recht hervorheben, zu einer Schädigung der Leukocyten — wohl infolge von Kompression — führen. Allerdings fanden Lambotte & Stiennon, daß die Leukocyten auch nach längerem Zentrifugieren (bei 2500 Umdrehungen in der Minute) nicht dauernd unbeweglich waren, sondern sich innerhalb $^{1}/_{2}$—1 Stunde wieder erholten; für Phagocytoseversuche kommt es jedoch darauf an, den Leukocyten ihre volle Aktivität zu bewahren.

Verhalten der Leukocyten verschiedener Tierarten.

Im allgemeinen hat sich ergeben, daß es gleichgültig ist, von welcher Tierart die Leukocyten herstammen, insbesondere tritt die Phagocytose meistens ebenso gut ein, wenn Serum und Leukocyten von verschiedenen Tierarten, als wenn sie von derselben Art stammen (Denys & Marchand, Neufeld & Rimpau u. a.); nur darf natürlich das fremde Serum nicht etwa direkt schädigend auf die Leukocyten wirken (Rüdiger & Davis, Bächer u. a.), was bei Bakteriotropinversuchen in der Regel nicht in Betracht kommen wird, da man meist mit stärkeren Serumverdünnungen und mit inaktivem Serum arbeitet. Diese Erfahrungen stimmen gut mit der Auffassung überein, wonach sich der spezifische Vorgang bei diesen Versuchen ausschließlich zwischen dem Serum und den Bakterien abspielt, während die Leukocyten erst sekundär, gewissermaßen nur als Indikator der Serumwirkung in Betracht kommen.

Dementsprechend kann man die Phagocytose in vitro nicht nur an Meerschweinchen- und Kaninchenleukocyten beobachten, sondern ebensogut auch an Leukocyten von Menschen, Ziegen, Hunden, Katzen, Ratten, Mäusen, Hühnern usw. (Hectoen, Bächer u. a.). Rüdiger & Davis fanden, daß sogar die Leukocyten von niederen Tieren (niedere Wirbeltiere, Echinodermen, Mollusken, Würmer, Arthropoden), in vitro Bakterien zu fressen vermögen, sobald diese vorher durch das Serum von höheren Tieren entsprechend beeinflußt worden sind, und daß ferner Sera von Kaltblütern Bakterien so präparieren können, daß sie durch Warmblüterphagocyten aufgenommen werden.

Natürlich ist damit nicht gesagt, daß die verschiedenen Leukocytenarten quantitativ die gleiche Fähigkeit zur Phagocytose besitzen; selbstverständlich wird man nur Versuche, die mit der gleichen Leukocytenart angestellt sind, miteinander vergleichen können. Die Leukocyten der verschiedenen Tierarten unterscheiden sich nicht nur durch ihre Aufnahme-, sondern auch durch ihre Verdauungsfähigkeit gegenüber den aufgenommenen Keimen; so werden nach meiner Erfahrung die meisten Bakterienarten von Kaninchen- und Mäuseleukocyten energischer aufgelöst, als von Meerschweinchenleukocyten.

In einzelnen, anscheinend seltenen Fällen werden aber, wie zuerst von Hectoen festgestellt wurde, die durch ein Serum sensibilisierten Bakterien von einer bestimmten Art von Leukocyten gefressen, von anderen dagegen nicht, ohne daß im letzteren Falle eine Schädigung der Leukocyten durch das Serum nachweisbar ist. In einem von Ungermann beschriebenen Fall wirkte normales Kaninchenserum opsonisch auf einen bestimmten Pneumococcus, aber nur bei Verwendung von Kaninchen-, nicht von Meerschweinchenserum.

Daß die Leukocyten nicht nur in vitro, sondern auch im Körper eines fremden Tieres längere Zeit ihre Freßfähigkeit bewahren, geht aus den interessanten Versuchen von Pettersson hervor. Der Autor spritzte Meerschweinchen intraperitoneal fremde Leukocyten, die aus Exsudaten anderer Tiere gewonnen waren, zugleich mit Typhusbacillen und Immunserum ein, und sah äußerst lebhafte Phagocytose nicht nur dann eintreten, wenn die injizierten Leukocyten von einem anderen Meerschweinchen, sondern auch, wenn sie von einem Kaninchen oder von einer Katze stammten. Auch

bei intraokularer Einspritzung fremder Leukocyten erfolgte Phagocytose. WEIL stellte bei ähnlichen Versuchen eine starke Schutzwirkung durch die fremden Leukocyten fest.

Haltbarkeit der Leukocyten.

Nach der Entnahme aus dem Tierkörper bewahren die Exsudatleukocyten die Fähigkeit zur Phagocytose mehrere Stunden lang anscheinend unverändert; bei im Eisschrank aufgehobenen Zellen zeigt sich diese Fähigkeit noch nach 24 und 48 Stunden teilweise erhalten, ebenso nach LAMBOTTE & STIENNON nach 8-stündigem Verweilen bei 37°. JOLLY fand sogar in dem 10 Monate im Eisschrank aufbewahrten Herzblut von Fröschen noch bewegliche Leukocyten. Natürlich wird man in der Regel möglichst frisch entnommene Exsudate benutzen. Es empfiehlt sich, die Lebensfähigkeit der Zellen vor dem Versuch zu prüfen, wozu die Betrachtung eines ungefärbten Präparates — ohne künstliche Erwärmung — genügt (NEUFELD & HÜNE); auch kann man ein Tuschepräparat (nach BURRI) benutzen. Die Mehrzahl der Leukocyten muß deutliche Ausläufer zeigen, wobei man jedoch weniger auf plumpe Pseudopodien als auf längere, feine und spitze (filiforme) Ausläufer zu achten hat. Exsudate mit unbeweglichen runden Leukocyten, die man bisweilen erhält, sind nicht zu verwenden.

Die Beteiligung der verschiedenen Leukocytenformen bei der Phagocytose

in vitro scheint mit den entsprechenden Beobachtungen im Tierkörper übereinzustimmen. Wie von METSCHNIKOFF immer betont worden ist, beteiligen sich an der Phagocytose gegenüber den meisten Bakterienarten ganz überwiegend die polynukleären Zellen, dasselbe ist auch im Reagenzglas der Fall. (Betreffs der verschiedenen Klassen der polynukleären Leukocyten vgl. unten S. 435.) Die Exsudate, die man bei Kaninchen und Meerschweinchen nach Injektion von Aleuronat oder Bouillon erhält, bestehen zum überwiegenden Teil aus polynukleären Zellen. Ganz indifferent verhalten sich übrigens auch die mononukleären (Makrophagen) nicht; nach NEUFELD & RIMPAU, BÄCHER, v. GRUBER nehmen auch sie einen, wenn auch nur geringeren Anteil an der Phagocytose. Inwieweit die Makrophagen imstande sind, die gefressenen Bakterien auch zu verdauen, bedarf wohl noch weiterer Beobachtung. Umgekehrt spielen die Makrophagen im Tierkörper (METSCHNIKOFF) wie im Reagenzglas den roten Blutkörperchen gegenüber die größere Rolle, jedoch sieht man stets auch zahlreiche mit Erythrocyten gefüllte polynukleäre Zellen. Leukocyten und Spermatozoen, ferner Spirochäten werden den Beobachtungen der METSCHNIKOFFschen Schule zufolge im Tierkörper nur von Makrophagen gefressen. Exsudate, die vorwiegend mononukleäre Zellen enthalten, erhält man nach GENGOU und OPIE durch Injektion fremder Erythrocyten oder Blutkörperchen*schatten*.

Daß auch isolierte Organzellen zu Phagocytoseversuchen in vitro benutzt werden können, hat wohl zuerst LANDSTEINER (1897) beobachtet; er sah die Zellen des roten Knochenmarkes von Meerschweinchen und Kaninchen, die er im Serum suspendierte, in vitro Bakterien und Blutkörperchen fressen. Bemerkenswert sind ferner die

Versuche von Briscoe; der Autor beobachtete die Aufnahme von Blutkörperchen und Bakterien durch mononukleäre Zellen der Lungenalveolen. Er konnte dabei feststellen, daß die Blutkörperchen und Bakterien stärker gefressen wurden, wenn sie vorher durch spezifisches Serum sensibilisiert waren. Vielleicht läßt sich diese Versuchsanordnung, deren Ergebnisse Briscoe durch parallele Versuche in vivo kontrollierte, auch für andere Organzellen mit Vorteil benutzen.

Verwendung abgestufter Serumverdünnungen zum Phagocytoseversuch.

Bei jeder Untersuchung auf Bakteriotropine ist es unerläßlich, abgestufte Verdünnungen des Serums anzuwenden; mit unverdünntem Serum kann man meines Erachtens eine exakte Untersuchung auf Tropine ebensowenig vornehmen, wie eine solche auf Agglutinine oder spezifische Ambozeptoren. Neufeld & Hüne benutzten Verdünnungen zwischen zwischen 1:5 und 1:1000 und bestimmten den bakteriologischen Titre eines Immunserums dadurch, daß sie den Grad der bei den verschiedenen Verdünnungen eintretenden Phagocytose, sowie die unterste Verdünnungsgrenze feststellten, in der das Serum noch eine zweifellose Phagocytosebeförderung gegenüber der natürlich jedesmal anzulegenden Kontrolle erkennen ließ. Außer der Kontrolle mit Kochsalzlösung sind auch solche mit inaktiviertem Normalserum anzulegen, sobald man sich nicht schon genügend überzeugt hat, daß normale Sera dem betreffenden Bakterienstamm gegenüber ohne Einfluß sind. Ein genauer Vergleich verschiedener Sera ist nur bei Benutzung der gleichen Leukocyten möglich, ähnlich wie man zur quantitativen Bestimmung der komplementablenkenden Antikörper eines Serums, um exakte Werte zu erhalten, dasselbe Komplement benutzen muß. Man erhält aber alsdann nach Neufeld & Hüne durchaus konstante Vergleichswerte, indem bei wiederholten Versuchen das relative Verhältnis der Stärke verschiedener Sera zueinander, auch wenn es sich nur um geringe Differenzen handelt, gleich bleibt. Die absoluten Werte zeigen dagegen wegen der ungleichen Beschaffenheit der Leukocyten gewisse, wenn auch meist nur geringe Schwankungen; will man daher einen absoluten Maßstab haben, so muß man bei jedem Versuch ein Serum von bekannter Stärke als Standardserum mitbenutzen und die gefundenen Zahlen eventuell danach umrechnen.

Am zweckmäßigsten ist es wohl, wie Neufeld & Bickel bei Versuchen über die Phagocytose von Blutkörperchen und Neufeld bei Untersuchung der Menigokokkenphagocytose beschreiben, zuerst das Serum in abgestuften Mengen einzufüllen, wobei die Verdünnungen so gewählt werden, daß immer nur eine kleine Flüssigkeitsmenge, zweckmäßig nicht über 0,1 eingebracht wird; dann gibt man in jedes Röhrchen, indem man Pipetten benutzt, die etwa gleich große Tropfen ergeben, bestimmte Mengen, z. B. je einen Tropfen der Bakterienemulsion und je zwei Tropfen der Leukocytenemulsion. Dabei ist das optimale Verhältnis der Bakterienmenge für die betreffende Kultur zu wählen, — ein sehr wichtiger Punkt, wenn man gute Präparate erhalten, und ebenso, wenn man eine exakte Titrebestimmung vornehmen will, da man nur auf diese Weise noch bei Anwesenheit geringer Serummengen deutliche Aus-

schläge erhält. Bei Untersuchung spezifischer Sera in der angegebenen Weise wird es meist genügen, das Serum von 0,01 abwärts abzustufen, z. B. 0,01—0,005—0,002—0,001—0,0005 usw., je nach Stärke der Sera; will man sich mit einer geringeren Zahl von Röhrchen begnügen, so wählt man die Serummengen 0,01—0,03—0,001—0,0003 usw. Bei Zusatz größerer Serumdosen muß man sich eventuell durch Kontrollen davon überzeugen, daß das Serum nicht einen schädigenden Einfluß auf die Leukocyten ausübt. Die Berechnung des Titres geschieht dann am einfachsten und exaktesten nach der absoluten Menge des zugesetzten Serums (anstatt, wie in den Versuchen von Neufeld & Hüne, durch Angabe des Verhältnisses, in dem die Serummenge zum Gesamtvolumen der in jedem Röhrchen enthaltenen Flüssigkeit steht). Vgl. die näheren Angaben Seite 419, ferner die neueren Untersuchungen von Ungermann & Kandiba über den Einfluß der absoluten Menge und der Konzentration des Tropins bei derartigen Versuchen in vitro.

Aber auch wenn es sich nicht um die quantitative Bestimmung eines bakteriotropen Serums handelt, sollten immer mehrere Verdünnungen untersucht werden, weil nicht selten die Phagocytose in den Röhrchen mit dem stärksten Serumgehalt schwach sein oder ganz ausbleiben kann. Bisweilen kann, besonders bei Zusatz einer geringen Bakterienmenge und bei solchen Bakterienarten, die sich (wie insbesondere Vibrionen) im Innern der Zellen sehr schnell auflösen, das ganze Phänomen bei starkem Serumgehalt zu schnell ablaufen, so daß zur Zeit der Entnahme nur noch wenig davon zu finden ist (Dean); häufiger tritt eine Hemmung der Phagocytose durch Ueberschuß von Serum ein.

Hemmungen der Phagocytose in vitro.

Hemmungserscheinungen beim Phagocytoseversuch kommen oft zur zur Beobachtung, am häufigsten bei Zusatz größerer Serummengen (über 0,01), sowie bei Versuchen mit akivem Serum und Leukocyten einer anderen Tierart. Hier liegt die von Rüdiger & Davis und Goodmann näher untersuchte Wirkung komplexer Leukotoxine zugrunde, die zum völligen Zerfall der Zellen führen kann. Aber auch ohne Schädigung der Zellen kann aktives Serum eine Hemmungswirkung haben. Ferner kann inaktives Serum, wie Bächer, Neufeld, Ungermann, Fornet & Porter, Rosenthal, Porges und viele andere sahen, stark hemmend wirken, sei es durch gewisse funktionelle Schädigungen der Leukocyten, sei es durch Einwirkung aut die phagocytosebefördernden Serumstoffe. Derartige Hemmungen werden durch Verwendung fallender Serummengen, eventuell Benutzung homologer Leukocyten, sowie schließlich durch Anwendung des Bindungsversuches nach Neufeld & Rimpau, wobei das Serum überhaupt nicht mit den Leukocyten in Berührung kommt, auszuschalten sein. Das letztere Mittel wurde von Ungermann mit Erfolg bei solchen Antipneumokokkenseris benutzt, die zwar in vivo, aber nicht bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung in vitro Phagocytose bewirkten; die sensibilisierten und vom Serum befreiten Kokken wurden dagegen prompt gefressen. Aehnliche Erfahrungen haben Bürgers & Meisner mitgeteilt.

Daß in gewissen Fällen wenigstens das Normalserum seine phagocytäre Wirkung nur bei Verwendung bestimmter Leukocyten-

arten erkennen läßt (Hectoen, Ungermann) wurde oben erwähnt; die Ursache dieser Erscheinung ließ sich nicht feststellen.

Karbolisierte Sera darf man selbstverständlich nicht, wie es zuweilen geschehen ist, in so großen Mengen zusetzen, daß dadurch die Zellen geschädigt werden (vgl. Manwaring & Ruh, Ohkubo).

Von Neufeld & Bickel, Huggenberg, Bezzola sind Fälle beschrieben worden, in denen anscheinend eine echte Hemmung durch Ueberschuß von Immunserum vorlag, ähnlich wie bei Agglutination und Komplementablenkung ein Ueberschuß des Serums hemmend wirken kann. Bezzola nimmt an, daß diese Erscheinung besonders bei älteren, karbolversetzten Sera vorkommt, Neufeld & Bickel haben sie aber auch bei frischen Sera, jedoch nur bei Zusatz von mehr als 0,01 Serum beobachtet. Auch hier wird eine weitere Abstufung des Immunserums oder der Bindungsversuch zum Ziele führen.

Daß die Phagocytose durch starke Agglutination behindert wird, ist eine häufig zu beobachtende Erscheinung, die besonders deutlich aus den Protokollen von Huggenberg hervorgeht. Nach meiner Erfahrung stören aber bei Verwendung abgestufter Serumverdünnungen die durch starke Agglutination bedingten Ungleichmäßigkeiten die Beurteilung des Ergebnisses nicht.

Verhalten abgetöteter Bakterien.

Eine wichtige Beobachtung, die zuerst von Denys' Schüler Marchand mitgeteilt wurde, betrifft das Verhalten abgetöteter Bakterien. Man hätte vielleicht erwarten können, daß abgetötete Bakterien ohne weiteres von den Phagocyten aufgenommen werden würden. Dies ist jedoch keineswegs der Fall, vielmehr setzen die durch Hitze, Alkohol, Phenol usw. abgetöteten Streptokokken, vorausgesetzt daß es sich um hochvirulente Stämme handelt, der Phagocytose denselben Widerstand entgegen wie lebende. Neufeld & Rimpau, Hectoen, Levaditi & Inmann u. a. bestätigen, daß abgetötete virulente Kokken erst nach Zusatz von Immunserum phagocytiert werden; dasselbe Verhalten wurde bei andern Bakterien gefunden. Bei manchen Bakterienarten, insbesondere bei Tuberkelbacillen (vgl. unten), werden zum Phagocytoseversuch in der Regel abgetötete Kulturen benutzt; sogar vorher mit Karbolfuchsin gefärbte Tuberkelbacillen lassen sich nach Campbell dazu verwenden. Uebrigens werden, wie ich gelegentlich beobachtete, auch Cholera- und Typhusbacillen, die mit Fuchsin oder Methylenblau vorgefärbt sind, nach Zusatz spezifischen Serums von Phagocyten aufgenommen.

Zeitdauer des Reagenzglasversuches und weitere Einzelheiten der Versuchstechnik.

In Uebereinstimmung mit dem Verhalten im Tierkörper zeigen die hochvirulenten Strepto- und Pneumokokken die „reinsten" Kontrollen, d. h. auch nach 2—4-stündigem Aufenthalt bei 37° findet sich in den Kontrollen mit Kochsalzlösung oder Normalserum so gut wie gar keine Phagocytose (Denys mit Leclef und Marchand, Neufeld & Rimpau, Hectoen, Rüdiger, Bürgers u. a., über abweichende Befunde von Huggenberg vergl. unten), ebenso fehlt die Spontanphagocytose bei Ruhrbacillen fast völlig (Wright & Douglas, Dean, Haendel). Bei Typhus und Paratyphus tritt sie

zuweilen deutlicher hervor, doch gelingt es meist leicht, virulente Stämme zu finden, bei denen innerhalb $1^1/_2$—2 Stunden die Kontrollpräparate nur sehr geringe Aufnahme zeigen. Bei Cholerabacillen ist es dagegen oft schwierig, einen geeigneten Stamm zu finden; einmal zeigt sich meist stärkere Spontanphagocytose als bei den bisher genannten Mikroorganismen, sodann erschwert der rapide Zerfall, den die Vibrionen mancher Stämme zeigen, die Beobachtung der Phagocytose. (Ueber ähnliche Verhältnisse bei Meningokokken vgl. unten.) Man tut daher gut, für Choleraversuche eine kürzere Beobachtungszeit, $^1/_2$—$^3/_4$ Stunde, zu wählen, während für die anderen oben genannten Bakterienarten eine $1^1/_2$—2-stündige Beobachtung empfohlen wird (Neufeld & Hüne); bei Pneumokokken erhielt Ungermann nach 4 Stunden die besten Ausschläge. Als weiterer störender Umstand kommt bei den Vibrionen noch die schnelle Schädigung der Phagocyten durch das Vibrionengift hinzu. Oft wird es zweckmäßig sein, sich durch wiederholte Entnahmen in verschiedenen Zeitabständen von dem Fortschreiten des Prozesses zu überzeugen, um die richtige Entnahmezeit festzustellen; ferner kann man nach Jobling zunächst Serum und Bakterien längere Zeit bei 37° digerieren und dann die Leukocyten kürzer einwirken lassen.

Von besonderer Wichtigkeit ist es, das richtige Verhältnis zwischen der Menge der zuzusetzenden Bakterien und Zellen zu treffen; auch hier gilt es optimale Bedingungen für den Eintritt der Phagocytose herzustellen. Im allgemeinen ist es besser, die Bakterienmenge zu groß, als zu klein zu wählen, so daß auch bei stärkster Phagocytose ein erheblicher Ueberschuß von freien Bakterien übrig bleibt. Neufeld & Hüne gingen so vor, daß sie etwa zwei Oesen Agarkultur in 1,0 Bouillon-Kochsalzlösung aufschwemmten; hiervon wurde je ein Tropfen mit einem Tropfen der zu untersuchenden Serumverdünnung und zwei Tropfen Leukocytenaufschwemmung gemischt. Für die meisten Bakterienarten hat sich mir später die Verwendung noch konzentrierterer Bakteriensuspensionen als vorteilhaft erwiesen. Die Beobachtung der Phagocytose kann auch so geschehen, daß man im hängenden Tropfen je ein Tröpfchen Kultur, Leukocyten und Serum mischt (Neufeld & Rimpau); die Methode gestattet eine direkte Beobachtung der phagocytären Vorgänge am geheizten Objekttisch. v. Gruber & Ohkubo haben quantitative Versuche in ähnlicher Weise in hängenden Tropfen angestellt, die nachher fixiert und gefärbt wurden; man kann dabei sämtliche überhaupt vorhandene Zellen durchmustern.

Die Beurteilung der Phagocytose geschieht durch Ausstrichpräparate, die mit Methylenblau (Neufeld & Hüne), nach Giemsa (Bächer u. a.), mit Thionin, oder mit Methylgrün-Pyronin (nach Pappenheim) gefärbt werden (Bächer, Rosenthal, Pappenheim).

Die Versuche werden fast stets bei etwa 37° angestellt; doch geht aus Versuchen von Bächer, Rüdiger & Davis, Ledingham u. a. hervor, daß Leukocyten auch bei niedriger Temperatur zur Phagocytose fähig sind.

Auffallend ist die langsame Verdauung der phagocytierten Bakterien bei Zimmertemperatur.

Zur Beschleunigung der Phagocytose und Vermeidung von Verklumpung ist ein ständiges Schütteln der Röhrchen empfohlen worden

(Böhme, Huggenberg, Rosenow u. a.). Auch ich habe in Versuchen mit Ungermann eine erhebliche Beschleunigung und Verstärkung der Phagocytose gefunden, sobald man die Röhrchen z. B. durch langsames Rotieren um die Querachse so bewegt, daß die Flüssigkeit dauernd im Strömen bleibt. Die Methode erscheint mir weiterer Prüfung wert.

Daß die Leukocyten im allgemeinen in reiner Kochsalzlösung ebensogut ihre Funktion ausüben, wie im homologen Serum, geht sowohl aus zahlreichen Kontrollen bei den gewöhnlichen Phagocytoseversuchen, als auch aus den Untersuchungen von Hamburger & Hekma über die Phagocytose von Kohlepartikeln hervor, die in ähnlicher Weise wie Achard & Feuillé die Aktivität der Phagocyten durch Versuche mit chinesischer Tusche gemessen haben. Bei Versuchen mit Bakterien sieht man jedoch häufig einen deutlichen Unterschied zugunsten der Röhrchen, welche anstatt Kochsalzlösung (neben dem phagocytosebefördernden Serum) Normalserum enthalten. Vor allem sind die Leukocyten besser erhalten, sei es, weil sie sich in ihrem natürlichen Milieu befinden, sei es, daß gewisse Giftwirkungen der Bakterien dadurch ausgeschaltet werden; im Zusammenhang damit erscheint öfters auch die Phagocytose lebhafter als in Kochsalzlösung, ohne daß man daraus auf eine opsonische Wirkung schließen dürfte. Sawtschenko & Barikine fanden bei Versuchen mit Blutkörperchen, Kohle, Karmin stets eine starke Begünstigung der Phagocytose durch kleine Komplementmengen infolge Anregung der Leukocyten. Ueber Phagocytose in anisotonischen Lösungen, sowie über den Einfluß von verschiedenen Salzen, Säuren, Alkalien, Desinfizienten usw. auf die Tätigkeit der Leukocyten vgl. S. 432.

Spezielle Versuchstechnik.

Bei Phagocytoseversuchen in vitro ist es dringend zu empfehlen, sich streng an eine erprobte Technik zu halten. Auch geringfügige Einzelheiten können auf das Resultat von Einfluß sein, z. B. ist es durchaus nicht gleichgültig, ob man die Phagocytose in Kapillarröhrchen oder in Reagenzgläschen vor sich gehen läßt, ob man viel oder wenig indifferente Flüssigkeit zufügt, denn damit ändern sich die Bedingungen für die Sedimentierung der Leukocyten und Bakterien und somit für den Verlauf der Phagocytose. Wenn z. B. für unsere Versuchsanordnung eine sehr viel längere Versuchsdauer oder eine weit stärkere Bacillenemulsion vorgeschrieben wird, als für die Technik nach Leishman-Wright, so ist das durch vielfache Erfahrung begründet. Natürlich kann man für bestimmte Zwecke diese Methode in geeigneter Weise modifizieren, man muß sich dann jedoch zunächst überzeugen, daß die modifizierte Methode auch leistungsfähig ist und sichere Ausschläge gibt.

Die folgende Beschreibung schließt sich an die von mir speziell für die Titrierung des Meningitisserums gegebene an.

Die Leukocyten werden von mittelgroßen Meerschweinchen (nicht von trächtigen Tieren!) durch intraperitoneale Injektion von etwa 5 ccm mit etwas Aleuronat versetzter Bouillon gewonnen; vor der Injektion wird das Gemisch im Dampftopf oder über der Flamme kurz gekocht. Die Tiere werden am Tage nach der Injektion getötet, die eröffnete Peritonealhöhe mehrfach mit größeren Mengen 0,85-proz. Kochsalzlösung (jedesmal 4—8 ccm, im ganzen 30—60 ccm) ausgewaschen, indem man durch Reiben und Umrühren mit der Pipette das an den Darmschlingen und am Netz haftende, oft zähe Exsudat abspült; bei stärkerer Neigung zur Gerinnung empfiehlt sich die Verwendung von Natriumcitratlösung. Die leukocytenhaltige Waschflüssigkeit läßt man einige Minuten in den Zentrifugengläsern stehen, so daß sich Fibrinflocken und andere gröbere Partikel zu Boden senken, und gießt dann in neue Zentrifugenröhrchen über.

Nun wird zentrifugiert, abgegossen, die dem Glase anhaftende Flüssigkeit mit Fließpapier abgesogen, der Bodensatz in frischer Kochsalzlösung aufgewirbelt, nochmals zentrifugiert und abgegossen.

Das Waschen schädigt die Leukocyten auch bei mehrfacher Wiederholung (die für die meisten Zwecke überflüssig ist) nicht; dagegen können die Leukocyten durch zu starkes, bezw. zu langes Zentrifugieren unbrauchbar werden. Ich benutzte eine kleine Wasserstrahlzentrifuge und zentrifugierte etwa 4—5 Minuten lang; dann ist die überstehende Flüssigkeit meist noch nicht völlig geklärt, und eine zu starke Kompression der Zellen nicht zu befürchten. Von der geeigneten Beschaffenheit der Leukocyten überzeugt man sich durch ein ungefärbtes Präparat; man sieht zwar keine Bewegungen an den Zellen, jedoch muß die Mehrzahl derselben ganz feine, filiforme Ausläufer zeigen, an manchen sieht man auch plumpe Pseudopodien.

Schließlich werden die Leukocyten in so viel Kochsalzlösung aufgeschwemmt, daß die Aufschwemmung mit bloßem Auge ebenso aussieht, wie eine $^1/_3$-proz. Lecithinaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung, die man sich, mit $^1/_2$ Proz. Karbol konserviert, einige Zeit zum Vergleich vorrätig halten kann.

Die Bakterienaufschwemmung wird in der Regel aus stark gewachsenen, etwa 20-stündigen Agarkulturen gewonnen; dieselben werden in einer Mischung von gleichen Teilen Bouillon und Kochsalzlösung verrieben, da eine Reihe von Bakterienarten in reiner Kochsalzlösung stark geschädigt wird. Je nach der Bakterienart und je nach dem Wachstum der betreffenden Kultur wird ein Agarröhrchen in 1—4 ccm Flüssigkeit sorgfältig verrieben.

Im allgemeinen ist es vorteilhaft, konzentrierte Bakterienaufschwemmungen zu benutzen, da man nur auf diese Weise maximale Ausschläge, d. h. deutliche Phagocytose noch in starken Serumverdünnungen erhält. Man beobachtet dann, daß nach $1\,^1/_2$ Stunden viele Leukocyten sich so stark mit Bakterien beladen haben, daß sie dadurch zugrunde gehen; hierdurch wird jedoch die Beurteilung der eingetretenen Phagocytose nicht beeinträchtigt. Durch Zusatz allzu großer Bakterienmengen kann allerdings die Phagocytose schließlich behindert werden; es ist einer der wichtigsten Punkte unserer Technik, das optimale Verhältnis zwischen Bakterien- und Leukocytenmenge zu treffen, event. ist dasselbe durch einen Vorversuch festzustellen.

Bei Pneumo- und Streptokokken setzt man statt der Emulsion 1—2 Tropfen 24-stündiger Bouillonkultur dem Gemisch zu.

Nun wird in kleine, etwa 5 cm lange Reagenzgläschen von ca. 12 mm Durchmesser, die in einem zweckmäßig mit numerierten Löchern versehenen Miniaturreagenzglasgestell (erhältlich bei F. & M. Lautenschläger) stehen, zunächst mit einer in $^1/_{100}$ ccm geteilten Pipette, die bis auf den Boden der Gläschen gesenkt wird, eine abgemessene Menge der Serumverdünnung bzw. Kochsalzlösung oder entsprechende Verdünnung von Normalserum gefüllt. Benutzt man ältere oder karbolversetzte Sera, so werden dieselben nicht eigens erhitzt; frische Sera müssen zunächst inaktiviert werden. Zweckmäßig stuft man die Serummengen zwischen 0,01 und 0,0001 ab, indem man das Serum 1:10 und 1:100 verdünnt und hiervon je 0,1, 0,05 und 0,02 oder 0,1 und 0,03 einfüllt, bei hochwertigen Seris geht man noch etwas tiefer hinunter. Dann tropft man aus Pipetten, die annähernd Tropfen von 0,01 ccm geben, in jedes Röhrchen je einen Tropfen der Kulturaufschwemmung und je zwei Tropfen Leukocyten. Die Röhrchen werden bei 37° gehalten und nach $1^1/_2$ bis 2 Stunden Ausstrichpräparate gemacht. Bei manchen Bakterien, wie den Vibrionen, ist die Entnahme schon nach etwa $^1/_2$ Stunde zu machen, bei andern, z. B. Pneumokokken, am besten erst nach 3—4 Stunden. Während dieser Zeit haben sich die Leukocyten als fester Niederschlag am Boden der Gläschen festgesetzt; man entfernt, ohne aufzuschütteln, die überstehende Flüssigkeit fast vollständig durch Abgießen und Absaugen mit Fließpapier, entnimmt eine Platinöse voll von dem Bodensatz und verreibt dieselbe sorgfältig auf dem Deckglase. Je weniger Flüssigkeit man auf das Deckglas bringt, um so besser läßt sich das Material verteilen, so daß man neben einigen größeren Zellhaufen möglichst viel isoliert liegende Leukocyten erhält.

Hat sich kein genügender Bodensatz gebildet, so werden die Röhrchen zweckmäßig kurze Zeit zentrifugiert (Huggenberg).

Die Fixierung geschieht mit Alkoholäther āā, die Färbung mit etwas verdünnter Methylenblaulösung; die besten Resultate geben alte Manson-

lösungen, die viel Chromatinfarbstoff enthalten. Giemsapräparate ergeben für die meisten Bakterien (außer Rotlauf) nicht so klare Bilder.

Es empfiehlt sich, bei größeren Versuchsreihen stets zwei Kochsalzkontrollen anzulegen und die eine als erstes, die zweite als letztes Röhrchen der ganzen Reihe auszustreichen; die Anfertigung aller Ausstriche nimmt bei größeren Versuchen etwa $^1/_2$ Stunde in Anspruch, und es ist daher zweckmäßig, sich zu vergewissern, daß während dieser Zeit in den Kontrollröhrchen keine nennenswerte Zunahme der Phagocytose erfolgt ist.

In manchen Fällen bleiben Zellen und Bakterien besser erhalten, wenn man zuerst Serum plus Bakterien ca. 1 Stunde bebrütet; dann brauchen die (vorgewärmten) Leukocyten nur $^1/_2$ Stunde lang einzuwirken (Joblins).

Die Methodik des Phagocytoseversuches nach Leishman-Wright und die Grundlagen der Ophoninlehre.

Im folgenden werden nur die allgemeinen Prinzipien der Leishman-Wrightschen Technik besprochen, die spezielle Technik der Indexbestimmung, wie sie hauptsächlich für klinische Zwecke in Betracht kommt, wird dagegen in einem anderen Abschnitt dieses Handbuchs von v. Wassermann & Michaelis behandelt.

Die Versuche Leishmans.

Leishman hat im Jahre 1902 als erster eine einfache Methode angegeben, um die Phagocytose durch menschliche Leukocyten zu beobachten. Der Autor entnahm mittels einer kleinen Kapillare eine abgemessene Menge Fingerblut und mischte dasselbe auf einem Objektträger oder in einem Uhrglase mit der gleichen, in derselben Weise abgemessenen Menge einer Bakterienemulsion; beide Flüssigkeiten wurden gründlich durch mehrmaliges Aufsaugen vermischt, von dem Gemisch eine bestimmte Menge, die gerade den Raum zwischen Deckglas und Objektträger ausfüllte, auf einen Objektträger geblasen, mit einem Deckglase bedeckt und $^1/_2$ Stunde bei Körpertemperatur in einer feuchten Kammer gehalten. Dann wurde das Deckglas abgezogen, fixiert und nach der von demselben Autor angegebenen Modifikation der Romanowskyfärbung gefärbt. Die innerhalb der Versuchsdauer eingetretene Phagocytose wurde quantitativ gemessen, indem die in einer Anzahl von polynukleären Leukocyten enthaltenen Bakterien gezählt und daraus der Durchschnittswert für einen Phagocyten berechnet wurde. Gleichzeitig mit dem zu untersuchenden Patientenblut fertigte der Autor stets ein Kontrollpräparat mit seinem eigenen Blut an und bestimmte hier ebenfalls den Durchschnitt der gefressenen Bakterien; dann stellte er das Verhältnis zwischen beiden Proben fest, indem er die für das Normalblut gefundene Zahl von der des Patientenblutes subtrahierte: war die Phagocytose im Patientenblut also über der Norm, so ergab sich eine positive, war sie darunter, eine negative Zahl.

Die Anregung zu diesen Versuchen wurde Leishman dadurch gegeben, daß er, in Wrights Laboratorium arbeitend, Zeuge von dessen Bemühungen war, bakterizide Antikörper oder Agglutinine gegen Staphylokokken, Pestbacillen und Micrococcus melitensis im Serum von Rekonvaleszenten oder Schutzgeimpften in derselben Weise, wie z. B. beim Typhus, nachzuweisen. Diese Versuche fielen gänzlich negativ aus (Wright & Windsor), und dadurch kam Leishman auf den Gedanken, daß vielleicht statt dessen gegenüber den genannten Bakterien eine Steigerung der Phagocytose vorhanden sein könnte.

In der Tat gelang es LEISHMAN, nach der angegebenen Methode die Phagocytose von Staphylokokken, Micr. melitensis, Typhusbacillen und Milzbrand zu beobachten. Genauere Angaben werden nur über die Staphylokokkenversuche gemacht; hier war in zwei Fällen eine deutliche Steigerung der Phagocytose nach einer spezifischen Behandlung mit abgetöteten Staphylokokken festzustellen. Auffallend war dabei die klinische Besserung während der Tage mit hohem Index, und das rezidivierende Auftreten von Hautbläschen während der negativen Schwankungen; ob es sich hierbei um eine Gesetzmäßigkeit handelt, läßt der Autor jedoch dahingestellt.

LEISHMAN zählte in der Regel 20 Leukocyten durch, und zwar nur polynukleäre; er fand, daß sich bis zu 50 Kokken in einer Zelle mit Sicherheit zählen ließen; erhielt er noch größere Zahlen, so wiederholte er den Versuch mit einer dünneren Bakterienemulsion. Er betrachtet die Methode keineswegs als ideal, insbesondere seien die ungleiche Zahl und Virulenz der Bakterien, vielleicht auch die Schwankungen in der phagocytären Kraft des Kontrollblutes wichtige Fehlerquellen: dennoch seien die Resultate überraschend regelmäßig.

Wie man sieht, enthält die Arbeit LEISHMANS bereits die wesentlichsten Grundzüge zu der später von WRIGHT benutzten Methode und zur klinischen Anwendung derselben bei der „Vaccinetherapie". LEISHMAN selbst hat seine Arbeit, obwohl er dieselbe als vorläufige Mitteilung bezeichnet, nicht fortgesetzt.

Die Versuche von Wright und Douglas.

Im Verein mit DOUGLAS hat WRIGHT die Befunde LEISHMANS theoretisch und praktisch weiter verfolgt. WRIGHT & DOUGLAS modifizierten zunächst die von LEISHMAN angegebene Methode derart, daß eine getrennte Untersuchung des Serums und der Leukocyten ermöglicht wurde.

Zu diesem Zweck wurde das Blut durch Zusatz des gleichen Quantums von Natriumcitratlösung (0,5—1 Proz. in physiologischer Kochsalzlösung) flüssig erhalten, die Blutkörperchen in einer Kapillare zentrifugiert und mehrmals mit Kochsalzlösung gewachsen, um sie von dem anhaftenden Serum zu befreien; alsdann wurde mit Kochsalzlösung auf das ursprüngliche Volum aufgefüllt. Daß Natriumcitrat, auch in stärkerer Konzentration, die Leukocyten nicht schädigt, wurde durch Kontrollversuche festgestellt. Ferner ließen WRIGHT & DOUGLAS die Phagocytose nicht zwischen Deckglas und Objektträger, sondern in einer Kapillare vor sich gehen; in derselben wurde das zu untersuchende Serum mit dem aus weißen und roten Blutkörperchen bestehenden Bodensatz und der Bakterienemulsion gründlich gemischt, das Röhrchen alsdann zugeschmolzen, $^1/_4$ Stunde bei 37° gehalten, dann Präparate ausgestrichen und nach LEISHMAN gefärbt.

Als phagocytic count wird die Zahl der durchschnittlich von einem polynukleären Leukocyten (die mononukleären Zellen bleiben wie bei LEISHMAN ganz außer Betracht) aufgenommenen Bakterien bezeichnet; als opsonic index bezeichnen WRIGHT & DOUGLAS diejenige Zahl, die das Verhältnis zwischen dem mit einem pathologischen bzw. verdächtigen und dem mit normalem Serum erhaltenen phagocytic count angibt. Zählt man z. B. in 50 Leukocyten mit dem fraglichen Serum A im ganzen 120 Bakterien, in ebensoviel Zellen mit dem Normalserum B 90 Bakterien, so ist der opsonische Index des Serums A $\frac{120}{90} = 1{,}33$. Der opsonische Index, vielfach einfach als „In-

dex" eines Serums bezeichnet, ist also eine relative Zahl; die absolute Zahl der gefressenen Bakterien kann dabei außerordentlich verschieden sein, es hängt das hauptsächlich von der Art und der Menge der zugesetzten Bakterien, von der jeweiligen Beschaffenheit der Leukocyten und von der Zeitdauer des Versuches ab.

Bei der Bestimmung des Index sind daher die betreffenden Sera gleichzeitig zu entnehmen und zu verarbeiten, die gleichen Leukocyten und die gleiche Bakterienaufschwemmung zu benutzen, und zwar stets genau gleiche Teile. Würde man z. B. einmal mehr, das andere Mal weniger Bakterien zusetzen, so würde man ganz verschiedene Zahlen bekommen. Natürlich muß auch die Zeitdauer und die Temperatur während des Versuches genau die gleiche sein, ferner sollen die Kapillaren, in denen man die Phagocytose vor sich gehen läßt, wenigstens annähernd gleich sein; auch müssen Ausstrich, Färbung und Zählung der Präparate in identischer Weise ausgeführt werden. Was die Zahl der auszuzählenden Zellen betrifft, so haben Wright & Douglas bei ihren ersten Arbeiten ebenso wie Leishman meist 20—30 Zellen durchgezählt, später hat man vielfach, um genauere Werte zu erhalten, die Zählung von wenigstens 100 Leukocyten gefordert.

Mit dieser Methodik stellten Wright & Douglas in ihrer ersten Arbeit, die sich mit der Phagocytose des Staphylococcus aureus beschäftigt, zunächst fest, daß die Phagocytose die gleiche war, ob sie Serum oder (durch Citratzusatz erhaltenes) Plasma anwandten. Dieses Resultat hat Sellards für Plasma, das ohne Citratzusatz gewonnen war, bestätigt; die Opsonine entstehen also nicht etwa erst bei der Gerinnung des Blutes. Dagegen wurde die phagocytosebefördernde Eigenschaft des Serums durch 10 bis 15 Minuten langes Erhitzen auf 60 bis 65° völlig oder fast völlig vernichtet.

Die Einzelheiten des ersten grundlegenden Versuches seien hier wiedergegeben. Untersucht werden je zwei Proben des normalen Serums W mit den Leukocyten derselben Versuchsperson und eines zweiten Normalserums D mit den Leukocyten von D.

Zahl der durchschnittlich von einem Phagocyten aufgenommenen Staphylokokken:

Serum (frisch) und Leukocyten W:	19,8,	dasselbe Serum erhitzt:	3,4
desgl. 2. Röhrchen:	17,4,	„ „ „	0,6
Serum und Leukocyten D:	16,0,	„ „ „	1,8
desgl. 2. Röhrchen:	18,5,	„ „ „	1,5
Serum und Leukocyten W:	25,4,	„ „ „	0,0
desgl. 2. Röhrchen:	16,0,	„ „ „	0,0
Serum und Leukocyten D:	15,7,	„ „ „	0,2

Also spielt das Serum, und zwar ein bei etwa 60° thermolabiler Bestandteil desselben die entscheidende Rolle bei der Phagocytose. Wie v. Gruber (Referat in der Mikrobiologen-Vers. 1909) hervorgehoben hat, hat Denys bereits i. J. 1895 festgestellt, daß sich aktives und bei 56° inaktiviertes Normalserum prinzipiell verschieden verhalten und daß in der Regel nur im ersteren Phagocytose erfolgt. Auch v. Gruber hatte dieselbe Beobachtung gemacht, aber den Unterschied ebenso wie Denys auf eine Schädigung der Leukocyten durch das inaktive Serum zurückgeführt. Daß dies nicht der Fall ist, haben Wright & Douglas durch einen Kontrollversuch festgestellt. Derselbe zeigte, daß bei Verdünnung des frischen Serums mit inaktiviertem Serum annähernd dieselben Werte erhalten wurden, wie bei Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung; das inaktive Serum ist also eine indifferente Flüssigkeit.

Das Resultat des Verdünnungsversuches ist das folgende:

Verdünnung des Serums	Grad der eingetretenen Phagocytose bei Verdünnung mit	
	inakt. Serum	Kochsalzlösung
1:3	—	34,2
1:6	27,4	27,2
1:12	23,1	30,5
1:24	20,6	24,8
1:48	5,0	4,95
1:96	—	0,8
1:192	—	0,6

Aus diesen Versuchsergebnissen entnahmen Wright & Douglas offenbar die Berechtigung, die mit inaktivem Serum versetzten Röhrchen stets als Kontrollen zu benutzen und auf weitere Kontrollen, in denen das Serum vollständig durch Kochsalzlösung ersetzt ist, zu verzichten; in der Tat finden sich in den Versuchen der Autoren keine weiteren Kontrollen mit Kochsalzlösung. Bei Untersuchung von spezifischen Serumproben, d. h. von Sera erkrankter oder spezifisch behandelter Menschen sind Wright & Douglas zunächst von der Annahme ausgegangen, daß auch hier das inaktive Serum ein indifferentes Medium sei; in einer späteren mit Reid ausgeführten Arbeit hat sich Wright von der (bereits durch Denys & Leclef, Sawtschenko, Levaditi, Neufeld & Rimpau festgestellten) Tatsache überzeugt, daß im Immunserum auch nach dem Erhitzen auf 60° und darüber phagocytosebefördernde Stoffe enthalten sein können.

Ferner glaubten Wright & Douglas zunächst, daß jede Phagocytose durch die thermolobilen Opsonine hervorgerufen sein müßte; sie erklärten daher die zuweilen auch in den Kontrollpräparaten nicht ganz unerhebliche Phagocytose durch die Annahme, daß den Leukocyten trotz des Waschens noch geringe Spuren frischen Serums anhafteten. Später ist Wright, wohl beeinflußt durch die Mitteilung von Löhlein, von dieser Auffassung zurückgekommen und hat selbst die Bedingungen, unter denen eine „spontane“ Phagocytose zustande kommt, eingehend studiert.

Nun legten Wright & Douglas sich die Frage vor: wirkt das Serum stimulierend auf die Phagocyten oder verändernd auf die Bakterien? Zur Entscheidung dieser Frage benutzten die Autoren die Thermolabilität der phagocytosebefördernden Stoffe des Normalserums. Sie ließen frisches, menschliches Serum 15 Minuten bei 37° auf Staphylokokken einwirken, erhitzten dann die Mischung 10—15 Minuten lang auf 60° und setzten nun Leukocyten zu: bei dieser Versuchsanordnung trat starke Phagocytose ein. Wurde dagegen das Serum zunächst auf 60° erhitzt, dann die Bakterien zugesetzt (und die Mischung ev. nochmals auf 60° erhitzt), so blieb die Phagocytose, entsprechend dem oben Gesagten, annähernd vollständig aus. Um einige Zahlen zu geben, so betrugen bei 3 derartigen Versuchen die Durchschnittszahlen der von einem Leukocyten gefressenen Bakterien für das nach der Einwirkung auf die Kokken erhitzte Serum 27, 33 und 30, für das vorher erhitzte 3, 4, 4. Hiernach ist es zweifellos, daß die thermolabilen Stoffe, auf denen die Phagocytose in diesen Versuchen beruhte, auf die Bakterien und nicht auf die Leukocyten gewirkt

haben; denn mit den letzteren kam das Serum erst in Berührung, nachdem es durch Erhitzen unwirksam geworden war.

Wright & Douglas setzen jedoch ausführlich auseinander, daß ihre Versuche die Möglichkeit offen lassen, daß neben den auf die Bakterien wirkenden Stoffen im Serum auch noch Stimuline vorhanden sein könnten. Zur Entscheidung dieser Frage stellten sie Versuche über die Phagocytose von Karmin in aktivem und erhitztem Serum an, wobei im ersteren die Phagocytose stärker zu sein schien, ferner untersuchten sie, ob ein mit Staphylokokken abgesättigtes Serum noch phagocytosebefördernd wirkte: dies war deutlich der Fall. Wright & Douglas ließen hiernach die Frage nach dem Vorhandensein von Stimulinen neben den Opsoninen offen.

In derselben Weise wie für Staphylokokken haben Wright & Douglas für die Tuberkelbacillen die Thermolabilität der Opsonine festgestellt; in drei Versuchen sanken die (absoluten) Indices der Sera nach dem Erhitzen von 5,4 auf 0,75, von 17,3 auf 3,0, von 14 auf 3,0. Ebenso wurde durch den soeben angeführten Erhitzungsversuch festgestellt, daß auch hier die Wirkung des Serums sich gegen die Bakterien, nicht gegen die Leukocyten richtete; allerdings zeigte sich dabei, daß die mit dem Serum zusammen erhitzten Bakterien erheblich schlechter als die unerhitzten gefressen wurden.

Für drei Proben wurden dabei die folgenden Zahlen erhalten:

	Sera:		
	I	II	III
Index des frischen Serums	6,9	5,2	4,8
Index des nach Einwirkung auf die Bacillen erhitzten Serums	3,5	2,6	2,6
Index des vor Einwirkung auf die Bacillen erhitzten Serums	0,16	0,34	0,4

Im Verfolg der Beobachtungen Leishmans haben Wright und Wright & Douglas bei einer großen Zahl von Patienten, die an Staphylokokkenaffektionen und an Tuberkulose litten, den opsonischen Index festgestellt und die im natürlichen Verlaufe der Krankheit, sowie die nach spezifischer Behandlung mit „Vaccinen“ auftretenden Schwankungen des Index beobachtet. Sie fanden bei 20 Fällen von Staphylokokkeninfektion und bei 17 Tuberkulosefällen den Index stets gegenüber der Norm erniedrigt, wenn auch die Abweichung oft nur gering war; die Indices der Staphylokokkenpatienten schwankten von 0,1—0,87, die der Tuberkulösen von 0,4—0,9.

Später hat Wright dann gefunden, daß Herabsetzung des Index nur bei lokalisierter Tuberkulose bzw. Staphylokokkenaffektion die Regel ist, während generalisierte Fälle ein sehr unregelmäßiges Verhalten des Index zeigen, wobei sowohl normale, als auch erheblich erhöhte oder herabgesetzte Werte vorkommen. Wurden die Patienten spezifisch behandelt, so stieg der Index, nachdem er zuerst meist eine kurze negative Schwankung gezeigt hatte.

Bei derartigen Patienten, deren Blut entweder abnorm hohen oder abnorm niedrigen Index zeigte, stellten Wright & Douglas Versuche an um zu entscheiden, ob die Verstärkung bzw. Verringerung der Phagocytose auf einer Veränderung des Serums oder der Leukocyten beruhte. Dabei zeigte sich, daß die verminderte Phagocytose nicht auf verminderter Freßtätigkeit der Leukocyten, sondern auf geringerem Opsoningehalt des Serums beruhte.

Also ändert sich im Lauf einer Erkrankung oder bei spezifischer Behandlung der Opsoningehalt des Serums, aber nicht die Eigenschaften der Leukocyten; wie man sieht, ist dieses Ergebnis eine Bestätigung der früheren Feststellungen von Denys und seinen Mitarbeitern.

Einwände gegen die Indexbestimmung nach Wright und Abänderungsvorschläge.

Indem bezüglich der Technik der Indexbestimmung nach Wright auf den Artikel von v. Wassermann & Michaelis in diesem Handbuch verwiesen wird, sei nur kurz bemerkt, daß in der lange Zeit eifrig diskutierten Streitfrage, ob die Wrightsche Methode überhaupt genügend zuverlässige zahlenmäßige Werte liefert, keine völlige Einigung der Ansichten stattgefunden hat; obwohl Wright fortdauernd seine Technik abgeändert und verfeinert hat, scheint er in dieser Hinsicht von einer allgemeinen Anerkennung weiter entfernt zu sein, als im Beginne der Opsoninforschung. Zur Orientierung seien von Arbeiten, die sich im Wrightschen Sinne aussprechen, abgesehen von seinen eigenen grundlegenden Mitteilungen, die von Bulloch, Urwick, Bine & Lessner, Manwaring & Ruh, Noon & Fleming, White, Fleming, Strubell genannt, von gegnerischen Stimmen Potter, Moss, Park & Biggs, Bolduan, Thomas, Saathoff, Armit, Reyn & Kjer-Petersen, Insbesondere sei ferner auf die zusammenfassenden Artikel von Levaditi & Inman und Levaditi in dem Handbuch von Kraus-Levaditi verwiesen. Aus der neueren Literatur gewinnt man aber den Eindruck, als ob das Interesse an den Diskussionen über die opsonische Methodik bereits stark nachgelassen hat; meinen eigenen Standpunkt in dieser Frage habe ich unten begründet.

Ein Einwand gegen das Prinzip der Opsoninbestimmung ergibt sich aus der Erkenntnis der komplexen Natur der Opsonine (Neufeld); die Schwankungen des Index zeigen nicht nur Veränderungen der Immunstoffe, sondern auch des Komplements an. Aus den Arbeiten von Sachs, Moro, Lüdke u. a. geht in der Tat hervor, daß Komplementschwankungen im Verlauf akuter und chronischer Krankheiten nicht selten vorkommen.

Bei manchen nicht spezifischen Veränderungen des Index kann man wohl ohne weiteres Komplementschwankungen vermuten. So beobachteten Wright, Simon bei Frauen während der Menstruation sehr stark erniedrigten Index (für verschiedene Bakterienarten), Krössler & Neumann bei Schwangeren eine große Labilität des Tuberkuloseindex, ebenso Shaw bei Paralytikern herabgesetzten Tuberkuloseindex. Fraser, Simon u. a. sahen abnorm niedrigen Index für Tuberkelbacillen und Staphylokokken bei anderweitigen Krankheiten, bei einer ganzen Reihe verschiedenartiger Erkrankungen fand Simon ferner starke Erhöhung oder Erniedrigung des Index für Staph. citreus. Auch bei Tierexperimenten sind ähnliche Beobachtungen gemacht worden, so sahen McFarland & L'Engle bei Kaninchen nach Injektion von Blutkörperchen oder von Hefe starke Indexerhöhung für Staphylokokken, Forster sah im Tierversuch bei eiweißarmer Kost konstant eine Indexerniedrigung auftreten. In allen derartigen Fällen liegt wohl die Wahrscheinlichkeit vor, daß die konstatierten Indexschwankungen mindestens teilweise auf Komple-

mentschwankungen beruhen. Dasselbe gilt vielleicht auch für die kurzen negativen Schwankungen, die von Meakin & Wheeler, Wright u. a. bei Tuberkulösen nach geringen Muskelanstrengungen gefunden wurden, und für die länger dauernde Indexerhöhung, die Inman umgekehrt, verbunden mit subjektivem Wohlbefinden der Patienten nach erhöhter Muskelarbeit sah; wenigstens ist Wrights Annahme, daß hier spezifische Serumveränderungen durch „Autoinokulationen" vorliegen, nicht erwiesen. Uebrigens kann nach stärkeren Anstrengungen auch bei Gesunden eine kleine „negative Schwankung" eintreten; ebenso können Gesunde nach Injektion größerer Tuberkulinmengen einen erniedrigten Index (für Kokken) zeigen (Shaw).

Von Abänderungsvorschlägen für die Leishman-Wrightsche Technik hat der „prozentuale Index" von Simon am meisten Anwendung gefunden, wobei anstatt der durchschnittlich von einem Leukocyten gefressenen Keime die Zahl der sich an der Phagocytose beteiligenden Leukocyten bestimmt wird. Ferner hat Simon neben dem konzentrierten Serum auch verdünntes benutzt. Diese Methode ist von mehreren Untersuchern nachgeprüft und als zuverlässig und relativ einfach bezeichnet worden (Knorr, Tunicliff). Zu einer ähnlichen Methodik, nämlich Zählung der an der Phagocytose beteiligten Zellen bei Anwendung verschiedener Serumverdünnungen, ist auf Grund eigener Untersuchungen (mit Exsudatleukocyten) auch Bächer gekommen. Auch v. Gruber und Ohkubo hatten relativ gute Resultate mit der Feststellung des prozentualen Index. Marshall hat versucht, bei Immunserum durch die Untersuchung von Serumverdünnungen bessere Resultate zu erhalten, behält aber im übrigen die Methodik Wrights bei.

Auch Dean hat empfohlen, das Serum zu verdünnen und den Punkt festzustellen, wo im Vergleich mit einem Kontrollserum eine deutliche Wirkung aufhört; es ist das etwa dasselbe Vorgehen, wie das von Neufeld & Hüne bei ihren Bakteriotropinuntersuchungen. Es erscheint jedoch fraglich, ob die Methode der Serumverdünnung in der Art, wie es die genannten Autoren vorgeschlagen haben, als rationell für die Opsoninuntersuchungen angesehen werden darf; es ist zu bedenken, daß hier nicht, wie bei den Versuchen mit bakteriotropen Sera (und natürlich auch bei Agglutinin- und Präzipitinversuchen) ein einheitlicher Antikörper verdünnt wird, sondern gleichzeitig Ambozeptor und Komplement, so daß wahrscheinlich zwischen diesen beiden Komponenten nicht immer das geeignete quantitative Verhältnis bestehen wird.

Dodds, Dudgeon & Shattok, Veitch u. a. haben im Anschluß an die ursprüngliche Methode von Leishman empfohlen, das Wachsen und Zentrifugieren der Leukocyten ganz wegzulassen und einfach den „hämophagocytischen Index", d. h. das Freßvermögen der Leukocyten des Patienten in dem eigenen Serum im Vergleich zu einem Kontrollblut zu untersuchen. Hierzu wird das Blut einfach mit den Bakterien (und etwas Citrat) gemischt; die Autoren sehen einen Vorteil in der Einfachheit des Verfahrens, sowie darin, daß nicht nur eine Veränderung des Serums, sondern auch eine etwaige der Leukocyten gemessen wird.

Eine eigenartige Methodik haben Neisser & Guerrini beschrieben, um die phagocytosebefördernde Wirkung sowohl von Normal-

als von Immunsera zu bestimmen; sie bewiesen dabei zugleich, daß eine Wertbestimmung der Stoffe des Immunserums nur durch Austitrierung des Serums in abgestuften Verdünnungen möglich ist. Die Autoren zählen die zum Versuch kommende Bakterienaufschwemmung (nach einer von WRIGHT angegebenen Methode) und ebenso die benutzte Leukocytenemulsion; dann lassen sie die Phagocytose vor sich gehen, trennen nach Ablauf derselben (30 Minuten bei 37°) die Leukocyten — und mit ihnen die phagocytierten Bakterien — mittels Filtration durch Glaswolle von der Flüssigkeit und zählen nunmehr die in dem leukocytenfreien Filtrat vorhandenen, also nicht phagocytierten Bakterien. Zieht man diese Zahl von der Zahl der in der ursprünglichen Emulsion vorhandenen Bakterien ab, so erhält man die Summe der gefressenen Bakterien; diese Summe, dividiert durch die Anzahl der verwendeten Leukocyten, gibt die Zahl der durchschnittlich von einem Leukocyten aufgenommenen Keime (die „phagocytäre Zahl" WRIGHTS). In größeren Versuchsreihen, die sie mit Normal- und Immunsera an Staphylokokken anstellten, erprobten NEISSER & GUERRINI die Zuverlässigkeit der mit ihrer Methode der „Restzählung" erhaltenen Resultate; sie halten dieselbe für geeignet zum Zweck theoretischer Untersuchungen, nicht dagegen für klinische Zwecke.

Der an sich rationelle Versuch CAULFIELDS, die opsonische Kraft des inaktivierten Serums bei Zusatz von verdünntem Komplement zu bestimmen (also nur die opsonischen Ambozeptoren zu messen), scheint bisher keine Nachfolge gefunden zu haben.

Vorkommen und allgemeine Eigenschaften der Tropine.

a) Bakteriotropine der Immunsera.

Die Tropine (zuerst als „bakteriotrope bez. cytotrope Substanzen" bezeichnet) sind spezifische Antistoffe, die durch die üblichen Inaktivierungstemperaturen nicht unwirksam gemacht werden und die ohne Mitwirkung von Komplement die Bakterien (bez. Zellen) zur Phagocytose vorbereiten, ohne sie abzutöten oder sichtlich zu verändern. Der Grad der Thermoresistenz der Tropine ist etwas wechselnd, ähnlich wie das auch bei den Agglutininen und Ambozeptoren der Fall ist; $^1/_2$—1-stündiges Erhitzen auf 55°—56° ertragen sie wohl stets, in vielen Fällen ist sogar eine recht hohe Hitzebeständigkeit vorhanden. So erhitzten NEUFELD & HÜNE spezifische Cholera- und Typhussera ohne Schaden auf 62°—63°, in Antierythrocytensera fand HECTOEN nach Erhitzen auf 70°, NEUFELD & BICKEL nach 3 Wochen langem Aufenthalt (in Verdünnung 1:10) bei 60° die Tropine noch erhalten. Dagegen fand BÖHME, daß die relativ schwachen Tuberkulose-Tropine in Patientenseris durch längeres Erhitzen auf 60° erheblich abgeschwächt wurden, ähnliche Resultate hatte REITER; HUGGENBERG berichtet, daß die Tropine seiner Antistreptokokkensera im Gegensatz zu den von NEUFELD & RIMPAU untersuchten Sera bei 60° in 45 Minuten völlig zerstört wurden; dabei erwiesen sich, ähnlich wie bei agglutinierenden Seris, die Antikörper der hochwertigen Sera als relativ stabiler.

Gewisse Unterschiede mögen vielleicht auch in bezug auf die Haltbarkeit unserer Antikörper bei längerer Aufbewahrung vorliegen; sicher ist jedenfalls, daß die Tropine in hochwertigen Immunsera sich außerordentlich lange halten. NEUFELD & HÜNE fanden ein 5 Jahre altes Choleraserum hoch-

wirksam, bei eigens darauf gerichteten Versuchen fand ich ebenso wie Jobling die Tropine des Meningitisserums mindestens ein Jahr lang quantitativ völlig unverändert. Bei meinen weiteren Versuchen habe ich bei Cholera-, Typhus-, Ruhr-, Pneumokokken-, Meningokokkensera, die ich während einer Reihe von Jahren wiederholt untersuchte, keine merkliche Abschwächung gesehen und möchte danach glauben, daß sich die Tropine wenigstens in hochwertigen Seris bei Karbolkonservierung in der Regel jahrelang halten.

In bezug auf die Spezifität verhalten sich die Immuntropine ähnlich den anderen Antikörpern; während sie im allgemeinen streng spezifisch sind, finden sich nicht ganz selten Gruppenwirkungen. So enthielten die von Neufeld & Hüne, Clark & Simonds untersuchten Paratyphussera Tropine nicht nur für die ganze Hog-Cholera-gruppe, sondern in geringerem Grade auch für Typhusbacillen, die Tropine der Shiga-, Flexner- und Y-Ruhrsera greifen in ähnlicher Weise wie die Agglutinine auf die andern Typen über (Händel, M. Wassermann & Ritter), die Hämotropine desgleichen meist in demselben Maße wie die Hämolysine auf Blutkörperchen verwandter Tierarten (Hectoen, Neufeld & Bickel u. a.).

b) Cytotropine.

Ebenso wie gegen Bakterien lassen sich auch gegenüber körperfremden Zellen phagocytosebefördernde spezifische Antikörper gewinnen. Von solchen cytotropen Antistoffen sind bisher nur die gegen Erythrocyten gerichteten untersucht worden, doch darf man wohl vermuten, daß sich auch gegen andere Zellen entsprechende Antikörper werden herstellen lassen.

Die Untersuchungen von Sawtschenko, Tarassevitch, Gruber & Ruzicka, Neufeld & Töpfer, Barrat, Hectoen, Keith, Neufeld & Bickel haben ein reiches Tatsachenmaterial über die Hämotropine ergeben, dessen Bedeutung hauptsächlich in den theoretischen Schlußfolgerungen liegt, die sich daraus ableiten lassen. Die Hämotropine, die sich gegen eine Reihe von Blutarten mit Leichtigkeit in starker Konzentration gewinnen lassen, eignen sich in vieler Hinsicht weit besser als die Bakteriotropine zur Entscheidung der wichtigen Fragen nach der Konstitution der Tropine, ihren Beziehungen zu den spezifischen Ambozeptoren und den Opsoninen, sowie über die Auflösungsvorgänge innerhalb der Leukocyten. Insbesondere haben die neueren Untersuchungen übereinstimmend ergeben, daß die Hämotropine mit den hämolytischen Ambozeptoren nicht identisch sind. Der Gehalt der Sera an beiden Antistoffen geht oft sehr weit auseinander, dieselben können unter geeigneten Bedingungen durch Absorption einzeln aus einem Serum entfernt werden, das Verhalten gegen Erhitzung ist verschieden. Diese für die Theorie der Tropine wichtigen Befunde werden an den einschlägigen Stellen näher besprochen. v. Eisler & Sohma berichten, daß die Hämotropine in die Milch übergehen, dagegen – im Gegensatz zu den Lysinen — nicht in das Serum des Neugeborenen.

Das Studium der hämotropen Antikörper hat aber auch vom klinischen Standpunkt aus Interesse. Man beobachtet bei Infektionskrankheiten und Anämien öfters eine Phagocytose von roten Blutkörperchen durch die Leukocyten des zirkulierenden Blutes; dieses Vorkommnis ist von Wright bei Pneumokokkeninfektionen, von Rosenow und Davis (zit. bei Hectoen) bei Pneumonikern und Genick-

starrekranken gefunden worden; eingehend beschreibt Rowley die enorm starke Phagocytose in einem Falle von perniziöser Anämie; ich selbst konnte entsprechende Beobachtungen in einigen Fällen im frisch entnommenen Blute von Recurrensmäusen machen. Vgl. ferner die Befunde von Mallory bei Typhus, sowie den interessanten Sektionsbericht von Rössle (bei einem an Pneumokokkensepsis gestorbenen Falle von Lebercirrhose, Pankreas- und Nierenentzündung fand sich eine kolossale Erythrophagocytose nicht nur, wie öfter beschrieben, seitens der Kapillarendothelien, sondern auch seitens der Leberzellen, in geringerem Grade auch der Nierenepithelien und Pankreaszellen). Eine derartige Phagocytose kann sowohl auf primäre Schädigung der Erythrocyten, etwa durch Bakterientoxine, als auf Autohämotropine zurückgeführt werden. Daß im Serum von Patienten reichlich Hämotropine (für normales Menschenblut) vorkommen können, haben durch Reagenzglasversuche Eason, Kämmerer & Meyer, Dudgeon (vgl. auch Simon, Melvin & Roche) in Fällen paroxysmaler Hämoglobinurie, Rowley bei perniziöser Anämie und Davis bei Meningitis nachgewiesen; Hectoen untersuchte die Wirkung menschlicher Serumproben auf Blutkörperchen von Gesunden und Kranken und fand Isohämotropine insbesondere bei Typhuspatienten. Es erscheint als möglich, daß die Bildung von Hämotropinen bei verschiedenen anämischen Zuständen eine ursächliche Rolle spielt.

Auch gegen Spermatozoen lassen sich bekanntlich phagocytosebefördernde Antistoffe erzeugen (Metschnikoff), die, wie ich gesehen habe, auch in vitro wirksam sind. Dagegen ist es mir in einigen orientierenden Versuchen, bei denen ich Kaninchen mit Meerschweinchenleukocyten und Leberzellen (zum Teil nach vorheriger Auflösung mit Natr. taurochol.) vorbehandelte, nicht gelungen, spezifische Tropine zu erhalten, doch dürften weitere Versuche in dieser Richtung nicht aussichtslos sein.

c) Tropine gegen die Membran von Emulsionströpfchen.

Daß die Tropine sich nicht nur gegen Mikroorganismen und Körperzellen, sondern, ähnlich wie die Präzipitine und die Komplement ablenkenden Antikörper allgemein gegen körperfremde Stoffe von Antigencharakter richten, geht aus den Untersuchungen von Neufeld & Händel hervor. Die Autoren erhielten durch Injektion von Kaninchen mit Milch und Hühnereiweiß Sera, die einen spezifisch fördernden Einfluß auf die Phagocytose von Milchkügelchen bzw. von mit Eiweiß emulgierten Oeltröpfchen ausübten. Der Antikörper richtet sich hier also nicht gegen die Substanz der Fetttröpfchen, sondern gegen Eiweißstoffe, die als Kaseinhülle die Milchkügelchen und als „Haptogenmembran" die Emulsionstropfen umhüllen. Diese Beobachtungen sind vielleicht insofern von Interesse, als bekanntlich derartige Haptogenmembranen in biologischer Hinsicht gewisse Analogien mit den Hüllen der tierischen und pflanzlichen Zellen besitzen, wie das insbesondere von Höber (Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe) näher ausgeführt worden ist. Solche Analogien dürften auch für die Immunitätslehre von Bedeutung sein. Wir wissen aus den Untersuchungen über die Blutkörperchenstromata, daß wenigstens bei so einfach gebauten Zellen, wie es die Erythrocyten sind, die Antigene sich in der Hüllsubstanz befinden, die dementsprechend

den Angriffspunkt der Antikörper darstellt, und aus den Befunden von Ide und Demees geht weiterhin hervor, daß Antikörper, die gegen den Zellinhalt, also in diesem Falle das Hämoglobin gerichtet sind, gar nicht durch die Hüllsubstanz hindurch zu ihrem Antigen gelangen können und daher von unversehrten Blutkörperchen nicht gebunden werden.

d) Tropine im Normalserum.

Daß auch im inaktivierten Normalserum phagocytosebefördernde Stoffe sich finden, ist vielfach festgestellt worden; Neufeld & Töpfer, Barrat u. a. fanden solche Stoffe gegenüber Blutkörperchen, Neufeld & Hüne gegenüber gewissen Mäusetyphus- und Staphylokokkenstämmen, Klien, Clarke & Simmonds gegenüber Typhusbacillen (Kaninchenserum), Hectoen gegenüber Milzbrandbacillen (Rattenserum), Spät, Neufeld & Kandiba gegenüber Rotlaufbacillen. Wenn diese Befunde zunächst verhältnismäßig seltene Ausnahmen zu sein schienen, so ist durch spätere Untersuchungen von Simon, Hectoen, Hamilton, Eggers, v. Gruber & Futaki, Muir & Martin, Rosenthal, Fornet & Porter, Bezzola u. a. eine phagocytäre Wirkung des inaktiven Normalserums gegenüber Bakterien und Blutkörperchen als ziemlich häufiges Vorkommnis erwiesen worden; Rosenthal macht auch darauf aufmerksam, daß die Wirkung dieser Normaltropine, die meist nicht stark ist und bei Verdünnung der Sera daher bald ganz verschwindet, öfters durch den von ihm, sowie von Fornet & Porter u. a. gefundenen hemmenden Einfluß des konzentrierten Serums verdeckt ist und dann erst durch den Bindungsversuch nachgewiesen werden kann. Es scheint daher, als ob das Normalserum ziemlich häufig geringe Mengen an Tropinen (ebenso wie von Agglutininen und Ambozeptoren) gegen manche Bakterien enthält; doch dürfte denselben gegenüber der wohl in allen Fällen weit überlegenen Wirkung der Normalopsonine eine erhebliche Bedeutung für die natürliche Immunität kaum zukommen.

Wirkungsweise der Tropine (Stimulintheorie und Tropine).

Die grundlegenden Versuche von Denys & Leclef (1895) gaben zum ersten Male Aufschluß darüber, welcher Anteil dem Serum und welcher den Leukocyten bei der Steigerung der Phagocytose im immunen Tier zuzuschreiben ist. Metschnikoffs Lehre ging dahin, daß im Verlaufe der Immunisierung die Leukocyten allmählich zum Kampfe gegen die virulenten Krankheitserreger erzogen worden seien, z. B. dadurch, daß sie ihre Fähigkeit zuvor an wenig virulenten oder an abgetöteten Keimen der gleichen Art geübt hätten. Hiernach sollte der Unterschied zwischen einem normalen und einem immunisierten Tiere in der Beschaffenheit seiner Leukocyten liegen.

Diese Anschauung haben Denys & Leclef endgültig widerlegt. Sie brachten in vitro isolierte Leukocyten einerseits von normalen und andererseits von gegen virulente Streptokokken immunisierten Kaninchen mit diesen Streptokokken und etwas Serum eines normalen Kaninchens zusammen: in beiden Fällen trat keine Phagocytose ein, ein Unterschied zwischen den Leukocyten des empfänglichen und des immunen Tieres bestand nicht. Nun fügten sie statt des Normalserums das Serum eines immunisierten Kaninchens hinzu:

jetzt wurden die Kokken massenhaft von den Leukocyten gefressen, und zwar ebensogut von denen des normalen als von denen des immunisierten Tieres. Also liegt der Unterschied zwischen beiden nicht in einer Veränderung ihrer Leukocyten, sondern ihres Serums. Das Ergebnis dieses klassischen Versuches ist völlig klar und eindeutig und das gewählte Objekt das denkbar günstigste.

Was nun die Art der Serumwirkung betrifft, so liegt es so nahe, eine spezifische Veränderung der Bakterien durch das Serum anzunehmen, daß uns heute diese Folgerung eigentlich selbstverständlich erscheint. Dennoch ist sie damals von den Anhängern der Phagocytenlehre nicht gezogen worden. Bereits vorher hatte nämlich Metschnikoff, und zwar zunächst für ein Hogcholeraserum, bei dem sich weder ein antitoxischer, noch ein bakterizider, noch ein virulenzabschwächender Einfluß erkennen ließ, die Hypothese aufgestellt, daß die Wirkung des Serums in einer Stimulierung der Phagocyten bestehe. Die gleiche Vorstellung ist von ihm und seinen Schülern Bordet, Mesnil, Besredka, Gengou u. a. für eine Reihe anderer Sera, vor allem das Streptokokken-, Pneumokokken- und Rotlaufserum vertreten worden. Noch im Jahre 1904 hat Besredka ausführlich die Ansicht verteidigt, daß das Antistreptokokkenserum keine direkte Wirkung auf die Streptokokken ausübe und nur eine einzige Auffassung, nämlich die einer Stimulinwirkung auf die Leukocyten, übrig bleibe. Neben der Stimulintheorie ist bekanntlich von der Metschnikoffschen Schule nach der Entdeckung der spezifischen Ambozeptoren die Anschauung vertreten worden, daß ambozeptorbeladene Bakterien leichter phagocytiert würden, als unbeladene: beim Streptokokken-, Rotlauf- und Hogcholeraserum sollten aber die Ambozeptoren, wie die Autoren wohl mit Recht annehmen, keine Rolle spielen. Diese Anschauung suchte Sawtschenko auch experimentell durch Versuche, die er mit einem Antierythrocytenserum, teils in vitro nach der Denysschen Technik, teils im Meerschweinchenperitoneum anstellte, zu stützen; der Autor glaubte in der Tat nachweisen zu können, daß das spezifische Serum die Phagocytose dadurch anregt, daß es sowohl auf die Phagocyten wie auf die Erythrocyten wirkt.

Den entscheidenden Beweis für Unrichtigkeit der Stimulintheorie erbrachten Neufeld & Rimpau am Antistreptokokkenserum durch Benutzung des Bindungsversuches nach Ehrlich & Morgenroth. Wurden die Leukocyten zuerst mit dem spezifischen Serum 20 Minuten bei 37° gehalten, alsdann abzentrifugiert, gewaschen und mit Streptokokken versetzt, so trat keine Phagocytose ein. Dagegen war die Phagocytose äußerst lebhaft, wenn umgekehrt die Streptokokken mit dem Serum digeriert, dann abzentrifugiert, nochmals mit Kochsalzlösung gewaschen und nun mit Leukocyten zusammengebracht wurden. Das Antistreptokokkenserum wirkt also nicht stimulierend auf die Phagocyten, sondern verändernd auf die Bakterien ein.

Dieses Versuchsergebnis ist von zahlreichen Autoren für eine Reihe von Immunsera bestätigt worden; dementsprechend können die Tropine durch Digerieren mit den betreffenden Bakterien aus dem Serum entfernt werden (Dean, Neufeld & Hüne u. a.).

Die Ergebnisse erscheinen vor allem deshalb von prinzipieller Bedeutung, weil sie uns gestatten, die Phagocytenlehre mit

den von Pfeiffer, Ehrlich und ihren Schülern begründeten Anschauungen zwanglos in Einklang zu bringen; damit ist der unfruchtbare Gegensatz zwischen „humoraler“ und „cellulärer“ Immunitätstheorie aus der Welt geschafft.

Leukostimulantien und sonstige nicht-spezifische Einflüsse auf die Phagocytose.

Im Gegensatz zu der bisher erörterten spezifischen Präparierung der Bakterien zur Phagocytose findet durch verschiedene Einflüsse eine allgemeine nicht-spezifische Anregung der Phagocytose statt. So fanden Manwaring & Ruh bei Zusatz sehr geringer Mengen von verschiedenen Antisepticis, Wilson bei schwachen Konzentrationen von Chinin eine gewisse Steigerung der Phagocytose (von Streptokokken). Ferner haben Neisser & Guerrini für die Phagocytose von Staphylokokken festgestellt, daß eine Reihe von Stoffen, die in starker Konzentration Gifte für die Leukocyten sind, in geringer Dosis eine anregende Wirkung auf die Phagocyten ausüben, z. B. Pepton, Nukleinsäure, Chinin, Jodkalium, Staphylolysin; sie bezeichnen diese Stoffe als „Leukostimulantien“. Auch Bechhold untersuchte eine Reihe organischer Kolloide, wie Dextrin, Hämoglobin, Gelatine, sowie Fermente in derselben Richtung. Grünspan fand auch in vivo durch kleine Dosen Chinin eine Anregung der Phagocytose. Neisser & Guerrini machten auf die Möglichkeit einer praktischen Verwertung solcher stimulierenden Stoffe aufmerksam; sie wiesen in dem durch Behandlung von Pferden mit großen Mengen von Hefe gewonnenen „Deutschmann-Serum“ eine stimulierende, wahrscheinlich auf den Gehalt an Nuklein zu beziehende Wirkung nach. Vgl. die Berichte über Steigerung des „Index“ bei Tuberkulösen nach Behandlung mit Hefe (Huggard & Morland) und nach Nukleininjektionen (Bulloch).

Es muß jedoch hervorgehoben werden, daß für eine praktische Verwendbarkeit solcher Leukostimulantien bisher keine sicheren Anhaltspunkte vorliegen; was speziell das Deutschmann-Serum betrifft, so ließen die exakten Tierversuche von Bockhoff jede Schutzwirkung desselben gegenüber Infektionen mit verschiedenen Bakterien vermissen, ebensowenig bewirkte allerdings das von ihm untersuchte Serum in vitro eine stärkere Phagocytose (von Cholera-, Paratyphusbacillen, Meningokokken) als Normalserum.

Eine Herabsetzung der Phagocytose sah Rubin in vitro durch Alkohol und Chloroform, Graham durch Aether (Versuche in vitro und im Körper), Reynolds durch Morphium, Kruschilin durch größere Alkoholdosen (Tierversuche); Kentzler & Benczur fanden durch Antipyretika weder im Reagenzglas noch im Tierkörper eine erhebliche Beeinflussung der Phagocytose. Die Herabsetzung der Phagocytose in vivo durch größere Dosen von Narcoticis ist schon früher von Metschnikoff festgestellt worden; nach Kaups Versuchen an Hunden soll dabei auch die Verringerung des Opsoningehaltes beteiligt sein.

Die eingehendsten Untersuchungen über den Einfluß insbesondere von Salzen auf die Phagocytose verdanken wir Hamburger & Hekma, die die Phagocytose von Kohlepartikeln in verschiedenen Medien studierten. Sie fanden, daß jede Veränderung des OH-Gehaltes des

Serums seine opsonische Kraft vermindert, was im Gegensatz zu Angaben von NOGUCHI, aber im Einklange mit den Resultaten von EGGERS steht. HAMBURGER & HEKMA stellten ferner fest, daß isotonische Kaliumchloridlösungen die Phagocytose beeinträchtigen, während Calciumsalze sie so erheblich befördern, daß die Autoren ihre praktische Verwertung für möglich halten. Harnstoff, sowie Hämoglobin erwiesen sich als indifferent. HAMBURGER & HAAN haben die anregende Wirkung der Calciumsalze weiterhin studiert, ferner auch andere Erdalkalisalze sowie Halogensalze untersucht. EGGERS fand dagegen unter den von ihm untersuchten Salzen nur Magnesiumchlorid stimulierend. Eine Beschleunigung der Phagocytose (ebenfalls von Kohlepartikelchen) sahen HAMBURGER, HAAN, BUBANOVIC durch fettlösliche Stoffe wie Jodoform, Chloroform, Chloralhydrat, Benzol, Terpentinöl; sie führen diese Wirkung auf Herabsetzung der Oberflächenspannung der Leukocytenhüllschicht zurück.

WALBUM sah durch Cholesterin nicht nur in vitro, sondern auch in vivo bei den damit injizierten Kaninchen eine längere Zeit anhaltende, recht erhebliche Steigerung der Phagocytose eintreten, während MÜLLER die von ihm untersuchten Bakterienlipoide wirkungslos fand.

Ausgedehnte Untersuchungen hat MARBÉ über die Steigerung der Phagocytose angestellt, die er im Tierversuch und auch beim Menschen nach Injektion bezw. Verfütterung von Thyreoidsubstanz (ebenso durch Hypophysis- und Hodenextrakt) feststellen konnte. Dabei tritt anscheinend einerseits eine Steigerung der Freßtätigkeit der Phagocyten, andererseits eine Vermehrung der Serumopsonine ein. Letzteres stimmt mit der von FASSIN beobachteten Komplementvermehrung nach Thyreoidineinspritzung überein. Entsprechend früheren Beobachtungen von DUDGEON & SHATTOK am Menschen konstatierten HARTOCH & SIRENSKY in Tierversuchen eine starke, mehrere Tage lang anhaltende Indexerhöhung (für Staphylokokken) durch Einspritzung von artfremdem Normalserum (z. B. Hammel- oder Pferdeserum bei Meerschweinchen); wie der Bindungsversuch ergab, handelt es sich nicht um eine Stimulin-, sondern um eine Opsoninwirkung, offenbar infolge Komplementvermehrung.

Vorkommen und Eigenschaften der Opsonine.

Bereits WRIGHT & DOUGLAS haben festgestellt, daß frisches menschliches Serum Opsonine gegenüber zahlreichen Mikroorganismen, nämlich Tuberkelbacillen, Staphylokokken, Pestbacillen, Ruhrbacillen, Microc. melitensis, Bact. coli, Pneumokokken, Milzbrand-, Cholera- und Typhusbacillen enthält. Alle genannten Bakterienarten wurden reichlich, wenn auch in wechselndem Maße von Phagocyten aufgenommen, sobald frisches Serum zugesetzt wurde, während im inaktivierten Serum meist nur eine geringe Phagocytose eintrat. Dagegen ließ sich bei Diphtherie- und Xerosebacillen keine Opsoninwirkung erkennen, d. h. die Phagocytose war im erhitzten Serum durchschnittlich ebenso stark wie im frischen (etwa 3—10 Bacillen pro Leukocyt).

WRIGHT & DOUGLAS teilten hiernach die Bakterien in vier Kategorien ein, nämlich

1) solche, die sehr empfindlich sowohl gegen bakterizide als gegen opsonische Serumwirkung sind (Cholera, Typhus);

2) solche, die gegen bakterizide Wirkung in geringem Grade, gegen opsonische stark empfindlich sind (B. coli, Dysenterie);

3) solche, die gar keine Empfindlichkeit gegen bakterizide, aber starke Empfindlichkeit gegen opsonische Serumwirkung besitzen (Pestbacillen, Pneumokokken, Staphylokokken, Microc. melitensis);

4) Bakterien, die gegen beide Serumwirkungen unempfindlich sind (Diphtherie- und Xerosebacillen).

Später ist auch für Diphtheriebacillen eine opsonierende Wirkung des frischen menschlichen Normalserums festgestellt worden, ebenso weiterhin für Pseudodiphtherie-, Paratyphus- bzw. Hogcholerabacillen, für Gonokokken, Meningokokken, Staphyl. albus und citreus, für (avirulente bzw. wenig virulente!) Streptokokken usw.

Hieraus geht wohl hervor, daß die opsonisierende Wirkung des Normalserums umfassender ist als die direkt bakterizide Wirkung.

In dem Blute von Neugeborenen fanden Wright & Douglas in einigen Fällen den Opsoningehalt für Staphylokokken und TB. etwa gleich dem des mütterlichen Blutes, während er in anderen Fällen weit geringer war. Aehnliche Ergebnisse hatten Amberg, Turton & Appleton, Much, Wells; v. Eisler & Sohma fanden bei neugeborenen Meerschweinchen denselben Opsoningehalt wie im Serum des Muttertieres. Die eingehenden Untersuchungen von Bürgers ergaben, daß das Serum der Neugeborenen durchweg ärmer an Opsonin (ebenso wie an Ambozeptoren und Komplement) ist als das mütterliche Serum; nach Tunicliff sinkt der Opsoningehalt (ebenso wie die phagocytäre Kraft der Leukocyten) bald nach der Geburt stark, um erst im zweiten und dritten Lebensjahr die Norm zu erreichen. Diese Verhältnisse sind vielleicht für das Verhalten gegen Infektionen wichtig.

Daß nicht nur im Serum des Menschen, sondern auch in dem der daraufhin untersuchten Tiere sich Opsonine finden, geht aus zahlreichen Untersuchungen hervor; die meisten derselben beziehen sich auf Meerschweinchen- und Kaninchenserum (Hectoen & Rüdiger, Dean, Löhlein, Gruber & Futaki, Bächer u. a.). Aus den Befunden von Gruber & Futaki sei hervorgehoben, daß das Meerschweinchen- (und ähnlich das Kaninchen-)serum stark opsonisch auf Staphyl. aur., Streptoc., Pneumococcus, B. coli, Bac. ruber Kiel, Prodigiosus, Subtilis, Rotlauf, Proteus, Diphtherie wirkt; gegenüber B. pyocyaneus, suipestifer, suisepticus war die opsonische Wirkung insofern weniger deutlich, als hier auch im inaktiven Serum eine mehr oder weniger starke Phagocytose stattfand. Ferner wurden Opsonine im Serum von Pferden (Dean), Hunden (Hectoen), Rindern, Schweinen, Schafen, Tauben und Hühnern (Simon, Lamar & Bispham) nachgewiesen. Sie finden sich aber auch im Serum von Kaltblütern, wie Fischen und Fröschen und von Wirbellosen, wie Krebsen, Muscheln (Rüdiger & Davis, Sleeswijk).

Von großem Interesse ist natürlich die Frage, inwieweit sich im Körper außerhalb der Blutbahn Opsonine finden. Schon Wright & Douglas haben dieselben auch in Exsudatflüssigkeiten, in der Lymphe von Hautbläschen sowie in der Milch nachgewiesen; doch fand Wright mit Douglas und Reid bei Abszessen und peritonitischen Exsudaten den Opsoningehalt oft gegenüber dem Serum herabgesetzt, und zwar zuweilen nur für den betreffenden Krankheitser-

reger (Tuberkelbacillen, Staphylokokken). Da den bei der BIERschen Stauung in das Stauungsödem übergehenden Opsoninen eine Heilwirkung zugeschrieben wird, so haben SHIMODAIRA, JOSIANI, FASIANI den Gehalt solcher Oedemflüssigkeiten an Opsoninen (und Ambozeptoren, Agglutininen) genau untersucht; meist enthielten dieselben etwa ebensoviel Opsonin wie das Serum. In die Cerebrospinalflüssigkeit gehen dagegen nach MACKENZIE & MARTIN, HOUSTON, HECTOEN, CIUCA Opsonine (und Komplemente) fast gar nicht über, eine Tatsache, die für das Zustandekommen der Meningitis von Bedeutung sein dürfte. Bei aktiv und passiv immunisierten Hunden fand HECTOEN in der Thoraxlymphe stets weniger Immunopsonine, als im Serum; ebenso verhielten sich auch die Lysine und Agglutinine. BECHT & GREER untersuchten in ähnlicher Weise den Uebergang der Antistoffe in die Lymphe.

Was die Beteiligung der einzelnen Leukocytenarten bei der Phagocytose mit menschlichem Blut betrifft, so hat schon LEISHMAN angegeben, daß bei der Indexbestimmung nur die polynukleären Leukocyten zu berücksichtigen sind, die ja in der Tat ganz überwiegend an der Phagocytose teilnehmen. Nach NATTAN-LARRIER & PARVU, ACHARD, ROMOND & FOIX haben die eosinophilen nur geringes Phagocytosevermögen, letztere Autoren fanden bei verschiedenen Krankheiten erhebliche Schwankungen in der prozentualen Beteiligung der einzelnen Leukocytenformen. POTTENGER sowie BUSSE fanden für die verschiedenen ARNETHschen Klassen der Leukocyten etwa gleiche Aktivität, während nach LISTO mit der Zahl der Kernsegmente die Freßfähigkeit zunimmt (vgl. auch BRISCOE, BOUGHTON).

Ebenso wie die Sera, lassen sich bei der Versuchstechnik nach LEISHMAN auch die Leukocyten der verschiedensten Tiere zu Phagocytoseversuchen im Reagenzglase verwenden, nicht nur solche von Meerschweinchen und Kaninchen (die schon von DENYS benutzt wurden), sondern auch von Ziegen, Hunden, Schafen (HECTOEN u. a.), Hühnern (GRUBER), Fröschen, Schildkröten, Fischen, ja auch von niederen Tieren, wie Echinodermen, Mollusken, Würmern, Arthropoden (RÜDIGER & DAVIS u. a.).

Daß gerade bei niederen Tieren die Phagocytose eine große Rolle spielt, ist ja durch METSCHNIKOFFS grundlegende Untersuchungen lange bekannt; vgl. auch die neuere Arbeit von ANGERER. Die Phagocytoseversuche in vitro haben nun gezeigt, daß Bakterien, die durch ein bestimmtes Serum „sensibilisiert", also mit Opsonin beladen sind, dadurch nicht nur zur Phagocytose durch die Leukocyten derselben Tierart, von der das Serum herstammt, sondern ebensogut durch die Leukocyten einer beliebigen anderen Tierart vorbereitet sind. So fanden HECTOEN & RÜDIGER, daß Staphylokokken, die durch das Serum von Meerschweinchen, Kaninchen, Hunden, Ziegen, Ratten oder Pferden sensibilisiert worden sind, von menschlichen Leukocyten gefressen werden; SIMON, LAMAR & BISPHAM, sowie RÜDIGER & DAVIS stellten dasselbe für das Serum von Schafen, Schweinen, Rindern, Katzen, Hunden, Hühnern, Schildkröten, Fröschen, Fischen, Krebsen, Holothurien und Seeigeln fest. Ebenso werden umgekehrt die mit Warmblüterserum vorbehandelten Bakterien regelmäßig durch Leukocyten von niederen Wirbeltieren oder von Wirbellosen (Mollusken, Würmern usw.) gefressen (RÜDIGER & DAVIS). Dieses Verhalten ist deswegen von besonderem Interesse, weil daraus deutlich hervorgeht,

daß sich die spezifische Reaktion ausschließlich zwischen dem Serum und den Bakterien abspielt, und daß die Leukocyten dabei erst sekundär beteiligt sind: sie stellen gleichsam den Indikator der Serumwirkung dar.

Nicht selten beobachtet man jedoch, worauf Rüdiger & Davis, Bächer u. a. hinweisen, bei derartigen Versuchen, daß ein fremdes Serum nebenher auch toxisch auf die Leukocyten wirkt, wodurch natürlich die Beobachtung der Opsoninwirkung gestört wird. Diese „Leukocytotoxine" der Normalsera sind von Rüdiger & Davis, sowie besonders eingehend von Goodman studiert worden, sie sind nach den genannten Autoren komplexer Natur und werden durch 30 Minuten langes Erhitzen auf 55° unwirksam. Nach Beobachtungen von Bächer, Neufeld und Ungermann wirkt jedoch artfremdes Serum auch nach dem Inaktivieren bisweilen schädigend auf Leukocyten.

In einzelnen Fällen fand Hectoen, daß opsonische Bakterien z. B. durch Menschenleukocyten, aber nicht durch Hundeleukocyten aufgenommen wurden. Bächer nimmt für die von ihm beobachteten Fälle von stärkerer Phagocytose durch homologe Leukocyten an, daß in diesen Fällen das fremde Serum einen schädigenden Einfluß auf die Leukocyten ausgeübt hat. Eingehend untersuchte Ungermann einen Fall, wo normales Kaninchenserum einen Pneumokokkenstamm nur dann opsonisierte, wenn zum Versuch Kaninchen-, nicht aber wenn Meerschweinchenleukocyten benutzt wurden; eine funktionelle Schädigung der letzteren ließ sich dabei in Kontrollversuchen (mit anderen sensibilisierten Bakterien) nicht feststellen. Wenngleich derartige Fälle offenbar Ausnahmen bilden, so ist in zweifelhaften Fällen die Benutzung homologer Leukocyten für Opsoninversuche anzuraten.

Mit der soeben erörterten Annahme, daß die Leukocyten ein relativ indifferenter Faktor bei der Phagocytose sind, steht die von Denys entdeckte, von Wright & Douglas für menschliches Serum bestätigte Tatsache, daß bei der Immunisierung nur das Serum, aber nicht die Leukocyten eine Veränderung erfahren, in bestem Einklange. Dieser Befund ist weiterhin von vielen anderen Autoren, so von Hectoen und Clark für Typhuskonvaleszenten, von Fyshe, Neisser & Guerrini für die Staphylokokken behandelte Menschen bzw. Versuchstiere bestätigt worden.

Doch sah Rosenow bei Pneumonikern, abgesehen von der spezifischen Veränderung des Serums, auch die Aktivität der Leukocyten erhöht; dabei zeigten sich die Leukocyten auch gegen Erhitzung widerstandsfähiger als diejenigen von Kontrollpersonen. Potter & Krumwiede fanden bei Untersuchung einiger Pneumoniefälle die Aktivität der Phagocyten während der Krankheit herabgesetzt und erst gegen die Krise verstärkt. Löwenstein beschreibt, daß sowohl bei einem mit Tuberkulin behandelten Patienten wie bei einem gegen Tuberkulose immunisierten Kaninchen eine deutliche Veränderung der Leukocyten in dem Sinne eintrat, daß sie erhöhte phagocytäre Fähigkeit gegenüber Tuberkelbacillen zeigten. Auch von einigen anderen Autoren liegen Angaben vor, daß die Freßfähigkeit der Leukocyten im Verlaufe von Infektionskrankheiten schwanken kann; so fanden Basset Smith bei Maltafieber, Potter bei verschiedenen Affektionen eine gesteigerte Aktivität der Leukocyten. Dodds, Veitch, Dudgeon & Shattok u. a. haben mit Rücksicht auf derartige Erfahrungen vorgeschlagen, zu der Leishmanschen Methode der Indexbestimmung zurückzukehren, bei der Serum und Leukocyten des Patienten benutzt werden. In allen diesen Fällen handelt es sich offenbar nicht um eine spezifische, gegen einen bestimmten Mikroorganismus gerichtete Eigenschaft der

Zellen, sondern um eine Steigerung (bzw. Herabsetzung) der Leistungsfähigkeit der Zellen im allgemeinen.

Allgemein wird heute angenommen, daß die Opsonine der Normalsera ebenso wie die phagocytosebefördernden Stoffe der Immunsera nicht auf die Leukocyten, sondern auf die betreffenden Bakterien einwirken; eine nicht spezifische Anregung der Phagocyten durch frisches homologes Normalserum ist daneben festgestellt worden (Sawtschenko, Barikine u. a.). Insbesondere haben sich Bulloch & Atkin, Löhlein, Hectoen, Bächer und viele andere davon überzeugt, daß die Bakterien die Opsonine binden und auch dann noch stark phagocytiert werden, wenn sie durch Waschen vom Serum befreit sind. Dean sah die Bindung des Opsonins sowohl bei 37° wie bei 8°, jedoch in letzterem Fall erheblich verzögert eintreten. Bulloch & Atkin, Hectoen & Rüdiger, Löhlein fanden, daß diese Bindung auch bei 0° eintrat, während in den Versuchen von Meyer mit Paratyphusbacillen eine Opsonisierung bei 0° nicht stattfand (vgl. unten). Im Gegensatz zu anderen Berichten über „maximale" Phagocytose derartig sensibilisierter Bakterien hebt Meyer hervor, daß Paratyphusbacillen, die bei 37° 1 Stunde lang mit frischem Normalserum behandelt und abzentrifugiert waren, stets schlechter gefressen wurden, als bei direktem Zusatz des Serums; das gleiche beobachtete Hectoen für die opsonische Wirkung des Hundeserums auf Milzbrandbacillen.

Centanni fand, daß die durch Serum opsonisierten Pneumokokken das Opsonin beim Waschen leicht verlieren, und Sellards sah, daß die Phagocytose von Tuberkelbacillen und Staphylokokken, die vorher mit normalem Serum digeriert waren, nach mehrmaligem Waschen sehr stark abnahm; er glaubt deswegen, daß durch die Absorptionsversuche überhaupt nicht eine Wirkung des Serums auf die Bakterien bewiesen, und daß eine Stimulinwirkung nicht ausgeschlossen ist. Man darf aus diesen Versuchen (bei denen das jedesmalige Zentrifugieren der Bakterien bis zu 1 Stunde dauerte) wohl nur schließen, daß die Bindung zwischen dem Opsonin des Normalserums und den Bakterien keine sehr feste ist, was mit sonstigen Beobachtungen über andere normale Serumstoffe übereinstimmen würde. Allerdings wird man zugeben müssen, daß die Bindungsversuche bei den Stoffen des Normalserums keine so überzeugenden Resultate ergeben, wie bei den Tropinen der Immunsera.

Neisser & Guerrini fanden, daß das (Normal-)Opsonin für Staphylokokken sich nicht vollständig absorbieren läßt, sondern daß stets, wenigstens bei einmaliger Absorption mit großen Bakterienmengen, ein nicht unbeträchtlicher Rest davon übrig bleibt. Vielleicht handelt es sich um eine geringe Avidität des restierenden Opsonins (vgl. analoge Erfahrungen betreffs der Normalagglutinine [Müller]), die Verfasser weisen aber auch auf die Möglichkeit hin, daß das Normalserum auf die Leukocyten eine anregende Wirkung ausübt.

Die Beobachtung von Marchand, daß auch nach Erhitzen auf 65° das Verhalten der virulenten und avirulenten Bakterien gegenüber den Leukocyten unverändert bleibt, wurde von Hectoen u. a. bestätigt. Im allgemeinen können die zu Phagocytoseversuchen benutzten Bakterien vorher abgetötet, ja sogar oft ohne Schaden auf 100° und darüber erhitzt werden (Denys, Marchand, Wright & Douglas, Bächer u. a.). Nun hatten Wright & Douglas aber

auch gefunden, daß die Opsoninwirkung erhalten blieb, wenn die mit Opsonin beladenen Bakterien nachträglich $^1/_4$ Stunde auf 60° erhitzt wurden. Entsprechende Versuche anderer Autoren haben kein gleichmäßiges Resultat ergeben. Während Bulloch & Atkin, sowie Neisser & Guerrini dasselbe Ergebnis, wie Wright & Douglas hatten, fanden Hectoen & Rüdiger, daß ein mit Opsonin beladener Streptococcus nach dem Erhitzen auf 60° nicht mehr gefressen wurde, und zwar auch dann nicht, wenn von neuem frisches Serum zugesetzt wurde; sie schlossen hieraus auf eine Bildung von „Opsonoid", bei dem die bindende Gruppe noch erhalten, die funktionelle dagegen zerstört sei, und das daher eine „Verstopfung" der Rezeptoren bewirke. Auch Bächer sah bei Versuchen mit Staphylokokken, daß bei nachträglichem Erhitzen ($^1/_2$ Stunde auf 61°) ein Teil der Opsoninwirkung zerstört wird, und daß dieser Verlust durch Zusatz von neuem Serum nicht wieder ersetzt wird. Dagegen fand er, hierin in Uebereinstimmung mit einem früheren Versuche von Bulloch & Atkin, daß Kokken, die mit inaktiviertem Serum vorbehandelt worden sind, einer nachträglichen Sensibilisierung ebenso zugänglich sind, wie unbehandelte Kokken (in diesem Falle tritt also keine „Verstopfung" ein). Uebrigens glaubt Löhlein, daß die Herabsetzung der Phagocytose bei erhitzten, sensibilisierten Bakterien eine scheinbare sein könne, da die Färbbarkeit solcher Bakterien oft so stark herabgesetzt sein könne, daß sie der Zählung entgehen; in der Tat verfallen ja erhitzte Bakterien bisweilen leicht einer Autolyse, sowie einer Auflösung durch Körpersäfte. Es muß wohl unentschieden bleiben, ob das einmal auf den Bakterien fixierte Opsonin nunmehr thermoresistent ist (vgl. hierzu die von Friedberger & Pinczower mitgeteilten Beobachtungen über die starke Thermoresistenz des Agglutinins nach erfolgter Bindung an die Bakterienzelle), oder ob vielleicht die die Phagocytose bedingende Veränderung der Bakterien vor der Inaktivierung bereits genügend vorgeschritten war.

Fast alle Autoren stellen die Phagocytoseversuche bei Körpertemperatur an; Bächer hat jedoch durchweg bei Zimmertemperatur gearbeitet und dabei brauchbare Resultate erhalten. Auch Rüdiger & Davis beobachteten die Phagocytose durch Warmblüter- und Kaltblüterleukocyten bei Zimmertemperatur. Knorr fand eine erhebliche Verlangsamung der Phagocytose bei Zimmertemperatur; Kämmerer sah auch bei 0° bei Staphylokokken annähernd ebenso starke Phagocytose eintreten wie bei 37°, während sie bei Tuberkelbacillen etwa nur halb so stark war. Bine & Liessner fanden für Tuberkelbacillen bei 20 Minuten Beobachtungszeit bei 37° eine doppelt so starke Aufnahme wie bei 18° und eine 5mal so starke wie bei 0°. Tunicliff sah bei 45° in 5 Minuten starke Phagocytose von Diphtheriebacillen eintreten. Ich selbst sah bei vergleichenden Versuchen mit Cholera- und Typhusbacillen (nach der Technik von Neufeld-Hüne) erhebliche Herabsetzung der Opsonin- sowohl wie der Tropinwirkung bei Zimmertemperatur.

Ledingham untersuchte getrennt den Einfluß der Temperatur auf die Bindung des Opsonins an die Bakterien und auf den Ablauf der Phagocytose: es ergab sich, daß bei vorhergehender gleichartiger Sensibilisierung der Bakterien die Phagocytose durch Temperaturschwankungen zwischen 18 bis 40° kaum beeinflußt wird. Hectoen fand, daß Menschen- und Hundeleukocyten noch fähig zur Phago-

cytose blieben, wenn sie 30 Minuten lang auf 42°, aber nicht mehr, wenn sie auf 45° erhitzt wurden.

Jobling empfiehlt (speziell für Versuche mit Meningokokken) die Bakterien zunächst längere Zeit (1 Stunde) bei 37° mit dem Serum zu digerieren; alsdann tritt nach Zusatz der Leukocyten die Phagocytose schneller ein. Ich kann dieses Verhalten bestätigen; das Verfahren dürfte für manche Fälle vorteilhaft sein.

Huggenberg beschleunigte die Phagocytose durch ständige Bewegung der Mischung durch dauerndes langsames Umdrehen der Röhrchen (am besten auf einer Drehscheibe); auch ich habe mit dieser Methode sowohl bei der Wrightschen wie bei meiner Technik sehr gute Resultate erhalten, die Phagocytose war unverkennbar verstärkt und beschleunigt.

Verhalten virulenter und avirulenter Bakterien gegenüber den Opsoninen.

Wright & Douglas hatten zunächst geglaubt, jede Phagocytose auf eine Wirkung der thermolabilen Serumstoffe beziehen zu sollen, und die von ihnen in manchen Präparaten mit erhitztem Serum festgestellte Phagocytose durch die den Leukocyten noch anhaftenden Reste von frischem Serum erklärt. Demgegenüber hat besonders Löhlein nachgewiesen, daß manche Bakterien von Leukocyten, die sorgfältig durch mehrfaches Waschen von allen Serumresten befreit sind, energisch gefressen werden. („Spontanphagocytose", vgl. oben S. 407.) Weiterhin ist die gleiche Beobachtung für eine Reihe von Bakterienarten von Hectoen, Wright & Reid, Neufeld & Hüne, Dean u. a. gemacht worden; es ist daher für jeden Phagocytoseversuch eine Kontrolle mit physiologischer Kochsalzlösung unbedingt notwendig.

Von großer Bedeutung ist dabei ein in den Arbeiten von Wright & Douglas nicht berücksichtigter Umstand, nämlich die Virulenz der zum Phagocytoseversuch benutzten Bakterien. Die entscheidende Bedeutung dieses Punktes ist schon von Denys und Marchand bei ihren Versuchen mit Streptokokken erkannt worden. Auch weiterhin hat sich, ohne daß eine absolute Parallelität in dieser Hinsicht herrscht, gezeigt, daß sehr vielfach avirulente Bakterien bereits in den Kontrollröhrchen mit Kochsalzlösung und gewaschenen Leukocyten lebhaft von den Phagocyten aufgenommen werden, während bei virulenten Stämmen die Phagocytose völlig ausbleibt oder doch sehr gering ist.

Nun hat sich aber weiterhin herausgestellt, daß sich auch der opsonischen Wirkung des frischen Serums gegenüber in vielen Fällen virulente Stämme ganz anders verhalten als avirulente. Insbesondere sahen Hectoen, Rosenow, Strouse, Rüdiger u. a., daß avirulente Streptokokken und Pneumokokken nach Zusatz von Normalserum (von Menschen, Meerschweinchen, Kaninchen) sehr stark gefressen wurden, während virulente Stämme der Opsoninwirkung nicht unterlagen.

Rosenow fand bei einer großen Zahl frisch aus dem Blut isolierter Pneumokokken, daß diese Kulturen im Gegensatz zu avirulenten Pneumokokken sämtlich dem Opsonin gegenüber vollkommen resistent waren, sie wurden selbst nach 48-stündigem Digerieren mit

Serum nicht phagocytiert; dabei absorbierten sie auch kein Opsonin aus dem Serum. Durch Tierpassagen bzw. durch längeres Fortzüchten in künstlicher Kultur konnte diese Eigenschaft, etwa entsprechend den dabei erzielten Virulenzschwankungen, willkürlich geändert werden. Extrakte aus virulenten Pneumokokken enthalten nun nach Rosenow einen Stoff („Virulin"), der die Phagocytose von avirulenten Pneumokokken (nicht aber von Strepto- oder Staphylokokken) hemmt: die avirulenten Kokken absorbieren denselben, werden dadurch gegen das Opsonin resistent und gleichzeitig (in beschränktem Maße) virulent. Nach beendeter Extraktion absorbieren die virulenten Kokken Opsonin. Analoge spezifische Hemmungsstoffe gewannen Dudgeon, Panton & Wilson aus Typhus-, Proteus- und anderen Bakterien; kleinste Mengen der Stoffe steigerten wiederum die Phagocytose.

Aehnlich wirken die von Tschistovitch und Igumenow beschriebenen „Antiphagine", d. h. phagocytosehemmende Stoffe, die aus virulenten Hühnercholera- und Pyocyaneusbakterien extrahiert wurden; bei einer Nachprüfung gelangte allerdings Fiorito zu etwas abweichenden Ergebnissen.

Insbesondere haben aber die neueren Untersuchungen von Zade, Bürgers, Ungermann über die Bedeutung der Phagocytose und der Opsonine für die natürliche Immunität gegen Pneumo- und Streptokokken zu sehr interessanten und ganz eindeutigen Ergebnissen geführt; dabei wurde im Gegensatz zu den meisten der früheren Untersuchungen die Virulenz exakt festgestellt, und zwar für die Tierart, deren Serum auf seine opsonische Wirkung geprüft wurde. Bürgers hat auf Grund seiner Befunde vorgeschlagen, die Virulenz von Streptokokken für den Menschen durch den Opsoninversuch mit Menschenserum zu bestimmen. Die Verhältnisse liegen bei den genannten Kokkenarten in mancher Hinsicht einfacher, als bei anderen Bakterienarten. Gegenüber hochvirulenten Pneumokokken besitzt das Serum empfänglicher Versuchstiere (Kaninchen, Maus) nicht die mindeste bakterizide Wirkung (ebensowenig das Plasma [Dold]), während das Serum und in höherem Maße das Plasma des von Natur erheblich resistenten Menschen eine gewisse abtötende Kraft zeigt (Much, Dold). Avirulente Pneumokokkenstämme unterliegen nun ebensowenig wie virulente der Bakterizidie durch Kaninchen- und Mäuseblut; auch vom menschlichen Blut werden sie weniger beeinflußt als virulente Stämme. Dagegen verhalten sie sich der Phagocytose gegenüber völlig anders: sie werden zum Teil schon in den Kontrollen mit Kochsalzlösung, stets dagegen bei Zusatz von aktivem Normalserum gefressen. Dabei entspricht das Verhalten im Tierkörper auch in Einzelheiten durchaus dem in vitro. Ungermann untersuchte auch einen der seltenen Fälle, in denen ein Pneumokokkenstamm für Kaninchen avirulent, für die Maus hochvirulent war: er fand eine starke Opsoninwirkung des Kaninchen-, dagegen gar keine des Mäusenormalserums. Im Laufe der Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden verlor der Stamm auch seine Kaninchenvirulenz: nunmehr wurde er durch Normalkaninchenserum opsonisiert. Derartige Beobachtungen beweisen wohl aufs deutlichste, daß die Opsonine in gewissen Fällen für die natürliche Immunität der ausschlaggebende Faktor sind; sie zeigen uns zugleich aber wiederum, daß sich ein solcher Beweis nur durch steten

Vergleich der Befunde im Reagenzglase mit den Verhältnissen im Tierkörper erbringen läßt.

Die von allen anderen Beobachtungen abweichenden Resultate HUGGENBERGS, wonach auch hochvirulente Streptokokken der Opsoninwirkung des Normalserums unterliegen, zum Teil auch bereits spontan gefressen werden, würden unerklärlich sein, wenn nicht in einer Anmerkung angedeutet wäre, daß der Autor die Virulenz seiner Stämme nicht selbst bestimmt, sondern die betreffenden Angaben übernommen hat. Die „virulenten" Stämme sind also wohl nur früher, vielleicht auf anderen Nährböden einmal virulent gewesen. Bei den oft rapiden Virulenzschwankungen der septikämischen Kokken ist in zweifelhaften Fällen zu fordern, daß die Virulenzbestimmung gleichzeitig mit dem Phagocytoseversuch, und zwar aus demselben Kulturröhrchen vorgenommen wird, aus dem die Kokken für den Reagenzglasversuch entnommen werden; in dieser Weise sind UNGERMANN und ich vorgegangen.

Die bei einigen Bakterienarten gefundenen Unterschiede in dem Verhalten virulenter und avirulenter Stämme gegenüber dem Opsonin dürfen nicht ohne weiteres verallgemeinert werden. Es ist irrtümlich, wenn G. MAYER (Weichardts Jahresbericht 1910) schreibt, ich hätte ein solches Verhalten für Meningokokken behauptet. Es wäre ja möglich, daß hier ähnliche Verhältnisse vorliegen, doch können wir im Tierversuch nicht einen virulenten und einen avirulenten Meningococcus unterscheiden. Daß bei der verschiedenen Empfänglichkeit der Menschen für Genickstarreinfektion die Normalopsonine beteiligt sind, ist anzunehmen.

Opsonine der Immunsera.

Nachdem bereits LEISHMAN eine Steigerung des opsonischen Index infolge spezifischer Behandlung nachgewiesen hatte, ist von WRIGHT und seinen Schülern ein großes Tatsachenmaterial hierüber gesammelt worden. Aus demselben ist jedoch über das Auftreten von Immunopsoninen in unserem Sinne des Wortes wenig zu entnehmen, einmal weil die Bestimmung des Index mit unverdünntem Serum nach LEISHMAN-WRIGHT feinere Ausschläge überhaupt nicht erkennen läßt, vor allem aber weil dabei natürlich gleichzeitig die Tropine zur Wirkung kommen.

Daß auch bei Immunsera durch ein Zusammenwirken von Ambozeptoren und Komplement eine echte Opsoninwirkung eintreten kann, haben NEUFELD & BICKEL für Antierythrocytensera in quantitativen Versuchen nachgewiesen, bei denen sowohl der Gehalt an hämolytischen Ambozeptoren als auch an Cytotropinen exakt festgestellt wurde. Es zeigte sich, daß sehr kleine, an sich unwirksame (nicht mehr tropinhaltige) Mengen von inaktiviertem Serum bei Zusatz kleiner Komplementmengen lebhafte Phagocytose auslösten; dabei zeigten die mit derartig kleinen, „unterlytischen" Mengen von Ambozeptor und Komplement beladenen Blutkörperchen, sich selbst überlassen, keine Hämolyse. Hieraus geht hervor, daß bei der durch Ambozeptor und Komplement hervorgerufenen Opsoninwirkung keineswegs zuerst eine Auflösung oder überhaupt eine sichtliche Schädigung der betreffenden Zellen der Phagocytose voranzugehen braucht. In ähnlicher Weise konnten LEVADITI & INMAN eine opsonische Wirkung an Typhussera demonstrieren, wenn dieselben bis zur Unwirksamkeit verdünnt und mit verdünntem, ebenfalls an sich unwirksamem Normalserum versetzt wurden; das gleiche gelang DEAN für Ruhr-, Staphylokokken- und Typhusimmunserum, BÖHME für Typhus- und Colisera, BÜRGERS & MEISNER für alle von ihnen untersuchten Immunsera. Den gleichen Nachweis der komplexen Zusammensetzung konnten CAULFIELD für menschliche Tuberkulose-, KÄMMERER für menschliche

Typhussera, desgleichen Böhme für Typhus- und Coliimmunsera liefern. Sauerbeck, v. Gruber, Ohkubo fanden im Diphtherieheilserum Immunopsonine, und zwar ohne daß gleichzeitig Tropine vorhanden waren, während Lindemann in hochwertigen antibakteriellen Diphtheriesera beide Arten von Stoffen nachweisen konnte. Bär berichtet, daß das an sich unwirksame Marmoreksche Tuberkuloseserum nach Komplementzusatz deutliche Opsoninwirkung zeigte. Für derartige phagocytosebefördernde Wirkungen von Immunambozeptoren plus Komplement wird die Bezeichnung „Immunopsonine" zweckmäßig zu reservieren sein.

Allerdings scheint mir nicht in allen berichteten Fällen der Nachweis einer echten komplexen Wirkung sichergestellt zu sein. Einmal dürfen bei solchen Versuchen die verwendeten Dosen von Immunserum und Komplement nicht dicht unterhalb der für sich allein noch wirksamen Mengen liegen und die Ausschläge müssen groß genug sein, um eine Summation völlig auszuschließen. Die Resultate werden ferner, wie bei allen Phagocytoseversuchen mit Immunsera, um so eindeutiger sein, je weiter das (in der Regel den Leukocyten gegenüber artfremde) Immunserum verdünnt wird; in stärkerer Konzentration üben viele Sera eine Hemmung aus, welche nach meinen Erfahrungen bisweilen durch Komplementzusatz aufgehoben oder abgeschwächt wird, wodurch eine Komplettierung vorgetäuscht werden kann. Schließlich habe ich mich ebenso wie andere Autoren oft davon überzeugt, daß die Leukocyten bei Bakterienphagocytoseversuchen in vitro nach unserer Technik im frischen artgleichen Serum besser erhalten bleiben und auch aktiver sind als in den Kontrollen mit Kochsalzlösung.

Wenn hiernach nicht zu bezweifeln ist, daß viele Sera echte Immunopsonine (bez. spezifische opsonische Ambozeptoren) enthalten, so sind wir wenig darüber unterrichtet, wie häufig diese Stoffe vorkommen und welche Bedeutung sie neben den meist gleichzeitig vorhandenen Tropinen haben. In meinen Versuchen mit Meningitis- und Typhussera sowie in den von Händel mitgeteilten mit Ruhrimmunsera gelang es jedenfalls in der Regel nicht, hochwertige Sera, die etwas über die Grenze der Tropinwirkung hinaus verdünnt wurden, durch Zusatz einer an sich opsonisch unwirksamen Komplementverdünnung zu reaktivieren (Versuchsanordnung wie bei Neufeld & Bickel). Bezüglich der neuerdings von Bürgers mitgeteilten Reaktivierungsversuche vgl. unten.

Die bisherigen Ergebnisse sprechen wohl dafür, daß bei der phagocytären Wirkung der Immunsera die Tropine eine größere Rolle spielen als die Immunopsonine. Natürlich können die opsonischen Ambozeptoren im Organismus auch nur da zur Wirkung gelangen, wo genügend freies Komplement vorhanden ist; daher würde z. B. bei dem Mangel an Komplement in der Lumbalflüssigkeit (s. o.) ein etwaiger Gehalt an diesen Antistoffen im Meningitisserum praktisch vermutlich ohne Nutzen sein. Wie hieraus ersichtlich, ist die Unterscheidung zwischen den beiden Arten von phagocytären Stoffen im Immunserum nicht allein theoretisch wichtig.

Konstitution der Opsonine.

Während über die Auffassung der Tropine als einheitlich gebauter, nach Art der Ambozeptoren und Agglutinine wirksamer, relativ hitzebeständiger Stoffe von Anfang an kein Zweifel herrschte, ist die Konstitution der Opsonine Gegenstand zahlreicher Diskussionen

gewesen. Die Aufklärung darüber ist auch insofern von großer Bedeutung, weil die Indexbestimmung nach Wright auf der Annahme eines einfachen Baues der Opsonine basiert.

Wright & Douglas haben die von ihnen entdeckte Wirkung des frischen Normalserums auf neuartige, von den bis dahin bekannten Serumstoffen verschiedene Körper bezogen, und zwar offenbar vor allem deswegen, weil sie einen starken Opsoningehalt gerade gegenüber solchen Bakterien fanden, auf die das betreffende Serum gar nicht bakterizid oder agglutinierend wirkte. Insbesondere hatte Wright in Gemeinschaft mit Windsor das völlige Fehlen der bakteriziden Wirkung des menschlichen Serums auf Staphylokokken, ferner auf Pestbacillen und Micrococcus melitensis nachgewiesen; auch in den Sera mit Staphylokokken vorbehandelter Personen fanden sich keine bakteriziden Stoffe. Ebensowenig ließ sich in derartigen Seris eine Vermehrung der etwa vorher vorhandenen Agglutinine nachweisen.

Die Feststellung, daß die Opsoninwirkung von der bakteriolytischen Serumwirkung völlig unabhängig ist, behält auch dann ihre Bedeutung, wenn man sich der von vielen Autoren vertretenen Ansicht (vgl. v. Gruber) anschließt, daß daraus noch keineswegs die Verschiedenheit der betreffenden Serumstoffe folgt.

Einige Autoren, insbesondere Hectoen, Rüdiger haben den Opsoninen die gleiche Konstitution, wie sie die Agglutinine nach Ehrlich besitzen, zugeschrieben, nämlich die eines Rezeptors zweiter Ordnung, und demnach an ihnen eine haptophore und eine „opsoniphore" Gruppe unterschieden. Im Laufe der weiteren Untersuchungen haben sich jedoch mehr und mehr Gründe für die wohl von vornherein wahrscheinliche Annahme ergeben, daß bei der Opsoninwirkung die Komplemente des Serums eine Rolle spielen.

Daß die Opsonine etwa die gleiche Thermolabilität besitzen wie die Komplemente, geht schon aus der ersten Arbeit von Wright & Douglas hervor und ist allerseits bestätigt worden. Bulloch & Atkin fanden, daß das Staphylokokkenopsonin des Menschenserums bei 60° in 3 Minuten völlig, bei 50—55° in 33 Minuten fast völlig zerstört wird. Dean sah beim Erhitzen von frischem Kaninchenserum auf 60° den Index für Staphylokokken in der ersten Minute von 20 auf 5, in der zweiten auf 1, in der dritten auf 0,5 sinken; diesen Wert, der wohl den der spontanen Phagocytose in diesem Falle darstellen dürfte, behielt das Serum auch bei $^1/_2$-stündiger Erhitzung.

Sich selbst überlassen, verliert das Serum seine opsonische, ähnlich wie seine komplementäre Wirkung; Wright & Douglas fanden, daß in einem verschlossen und vor Licht geschützt aufbewahrten Serumröhrchen der Opsoningehalt nach 5 Tagen etwa auf die Hälfte gesunken war.

In getrocknetem Zustande läßt sich das Opsonin dagegen monatelang aufbewahren und ohne Schädigung auf 60° und selbst 100° erhitzen (Noguchi), ebenso das Komplement (Noguchi, Friedberger).

Eine weitgehende Parallelität zwischen Komplementgehalt und Opsoningehalt fanden Levaditi & Inman bei Untersuchung von Oedemflüssigkeiten sowie im Kammerwasser. Das letztere enthält normalerweise keine Komplemente, dagegen treten solche in dem nach Punktion neugebildeten Kammerwasser in größerer oder geringerer Menge auf (Sweet, Römer, Schneider). Levaditi & Inman fanden nun, daß sich das Opsonin genau entsprechend verhält, es

fehlt in normalen Humor aqueus, tritt aber nach Punktion in Mengen auf, die mit dem Komplementgehalt etwa parallel gehen. Die eingehenden Versuche von Schneider (mit Typhusbacillen) und von Zade bestätigten dieses interessante Verhalten vollkommen.

Bei Phosphorvergiftung verschwinden bekanntlich die Komplemente aus dem Serum, die Opsonine gleichfalls (Levaditi & Kössler).

Durch Absorption mit Hefe lassen sich Opsonin und Komplement zugleich aus einem Serum entfernen (Neufeld & Hüne, Levaditi & Inman); die letztgenannten Autoren sahen ferner Absorption des Opsonins durch Organbrei, Simon, Lamar & Bispham und Kämmerer durch Tierkohle, Shattok durch Melanin.

Wright & Douglas fanden, daß durch Digerieren eines Serums mit Typhusbacillen der opsonische Wert desselben für Staphylokokken stark herabgesetzt wird; zahlreiche Angaben haben weiterhin gezeigt, daß in der Regel eine Bakterienart das Serum seiner opsonischen Wirkung für andere Arten völlig oder teilweise beraubt (Muir & Martin, Levaditi & Inman, Auamit & Tsuda, Klein, Ledingham u. a.).

Nun wissen wir aus den Versuchen von v. Dungern u. a., daß durch Bakterienemulsionen Komplement gebunden wird, bei allen übrigen bekannten Serumstoffen sind wir dagegen gewohnt, eine weitgehendere Spezifität der Bindung zu beobachten (mag dieselbe auch den Befunden von Landsteiner & Reich zufolge keine absolute sein). Den soeben angeführten Beobachtungen stehen die Befunde von Bulloch & Western, Rosenow gegenüber, deren Absorptionsversuche eine mehr oder weniger ausgesprochene „Spezifität“ der Opsonine zu ergeben schienen; bei der Annahme einer komplexen Konstitution des Opsonins ist es selbstverständlich, daß derartige Absorptionsversuche je nach dem Verhältnis von gebundenem Ambozeptor und Komplement verschieden ausfallen müssen.

Den besten Beweis für die Beteiligung des Komplements an der Opsoninwirkung liefern wohl die unabhängig voneinander angestellten Versuche von Muir & Martin, Neufeld & Hüne, Levaditi & Kössler, Dean, aus denen hervorgeht, daß bei der spezifischen Komplementablenkung durch Zusammentreffen von eiweißpräzipitierendem Antiserum mit seinem Antigen auch das Opsonin abgelenkt wird. Am eingehendsten sind die Versuche von Muir & Martin; die Autoren stellten fest, daß eine Bindung des Opsonins nicht nur durch spezifische Präzipitate, sondern auch durch sensibilisierte Blutkörperchen und sensibilisierte Bakterien (B. coli), und zwar gleichzeitig mit der Bindung des hämolytischen und bakteriziden Komplements erfolgt. Ferner hat Sleeswijk bei verschiedenen Kombinationen eine quantitativ parallelgehende Absorption von hämolytischem Komplement und von Milzbrandopsonin nachgewiesen. Hätjens fand eine Absorption von Opsonin bei Zusammentreffen von Tuberkulin und Antituberkulin. Es sei daran erinnert, daß andere Antistoffe in der Regel nicht gleichzeitig mit dem Komplement gebunden werden; dies ist für die Antitoxine von Hamburger & Dehne, für die Ambozeptoren von Zebrowski, für die Agglutinine insbesondere von Manteufel nachgewiesen. Vor allem bleiben jedoch die Tropine bei jeder Art der Komplementablenkung quantitativ erhalten (Neufeld & Hüne, Muir & Martin, Levaditi & Inman).

Nach diesen Versuchen ist nicht zu bezweifeln, daß bei jeder Opsoninwirkung das Komplement notwendig beteiligt ist und daß also die opsonische Wirkung frischer Sera, wie das wohl von Hüne und mir zuerst klar ausgesprochen und begründet wurde, auf einem Zusammenwirken von (Normal- oder Immun-)Ambozeptoren und Komplement beruht.

Ist dies richtig, so muß sich die komplexe Konstitution des Opsonins erweisen lassen. Dies ist in der Tat gelungen; Levaditi & Inman, Dean, Cowie & Chapin, Meyer, Böhme, Reiter haben für verschiedene Kombinationen nachgewiesen, daß inaktiviertes Serum durch Hinzufügen einer kleinen, an sich unwirksamen Menge frischen Serums reaktiviert werden kann. Auch Eggers bestätigt die Reaktivierbarkeit des normalen erhitzten Serums, wenngleich eine solche Reaktivierung, wie das ja bei dem quantitativen Verhältnis von Ambozeptor und Komplement im Normalserum begreiflich ist, nicht in allen Fällen gelang. Nicht gelungen ist die Reaktivierung auch in Versuchen von Löhlein und Fornet & Porter. Wenngleich ich Fornet darin beistimme, daß in manchen der berichteten Reaktivierungsversuche die Ausschläge nicht eindeutig sind, dürften die Beobachtungen in ihrer Gesamtheit doch als ausreichend beweisend anzusehen sein; bei manchen der negativen Resultate mögen auch die von Rosenthal u. a. beschriebenen Hemmungen durch konzentriertes Serum eine Rolle gespielt haben.

Den vereinzelten Beobachtungen Fornets, in denen Opsonin und Komplemente bei Dialyse und Salzsäurezusatz sich verschieden zu verhalten schienen, wird man gegenüber den zahlreichen Beweisen für die Beteiligung von Komplement bei allen Opsoninwirkungen keine entscheidende Bedeutung zuschreiben dürfen, zumal Pribram durch Dialyse keine Trennung von Komplement und Alexin erielen konnte. Mutermilch fand, daß Opsonine und Alexine durch Kollodiumfilter zurückgehalten wurden, während spezifische Ambozeptoren und Tropine hindurchgingen.

Schließlich ist die komplexe Konstitution der Opsonine dadurch erwiesen worden, daß es Cowie & Chapin für Staphylokokkenopsonin und Meyer für Paratyphusopsonin gelang, durch den Absorptionsversuch bei 0° nach Ehrlich und Morgenroth das Opsonin des Normalserums in seine beiden Bestandteile, Ambozeptor und Komplement, zu trennen. Nur der erstere wurde bei 0° gebunden, während bei dem Komplement gar keine (Meyer) oder nur eine geringe (Cowie & Chapin) Bindung eintrat. Nun ist oben bereits erwähnt worden, daß andere Autoren, Bulloch & Atkin, Hectoen & Rüdiger, Löhlein eine gewisse „Opsonierung" von Bakterien bei 0° sahen. Dieses Ergebnis würde zu der Hypothese, daß bei der Opsoninwirkung Komplement beteiligt ist, in Widerspruch stehen, wenn nicht die von Neufeld & Händel mitgeteilten und von Sachs & Bolkowska bestätigten Versuche gezeigt hätten, daß die früher allgemein angenommene Anschauung, wonach bei 0° keine Bindung des Komplements eintreten soll, irrig ist, daß vielmehr je nach Art und Menge des Ambozeptors und des Komplements eine Bindung des letzteren bei 0° bald eintreten, bald ausbleiben kann; die Differenzen zwischen Ambozeptor und Komplement sind nur quantitative.

Auch die Ergebnisse der von Hectoen an Hämopsoninen verschiedener Normalsera angestellten Absorptionsversuche stimmen mit

der Annahme einer komplexen Zusammensetzung gut überein, ebenso die interessanten Befunde von Friedberger & Hartoch. Die Autoren sahen, daß z. B. Typhusbacillen, die mit Normalambozeptoren eines inaktivierten Pferdeserums beladen waren, bei Zusatz von Leukocyten und Komplement weit stärker phagocytiert wurden, wenn sie zuvor noch mit (präzipidierendem) Antipferdeserum behandelt waren; dadurch findet offenbar eine verstärkte Zuleitung des Komplements statt.

Von vorneherein ist anzunehmen, daß die opsonischen Ambozeptoren (innerhalb derselben Grenzen wie die sonstigen Normalambozeptoren) spezifisch, das bei der Opsoninwirkung beteiligte Komplement dagegen nicht spezifisch ist; eingehende Versuche von Hata, welche im übrigen die komplexe Konstitution der Opsonine bestätigen, haben in der Tat (für Tuberkelbacillen und Staphylokokken) das erwartete Resultat ergeben. Ferner ist Hata der Nachweis gelungen, daß das opsonische Komplement ebenso wie nach Morgenroth-Ferrata das hämolytische und nach neueren Untersuchungen auch das bakterizide Komplement aus zwei Teilstücken, „Endstück" und Mittelstück besteht; die Wirkung beider Teilstücke wurde kürzlich von Ledingham & Dean eingehend untersucht.

Nach allen diesen Befunden kann es keinem Zweifel mehr unterliegen, daß die Opsonine keine einheitlichen, sondern komplexe, aus Ambozeptor und Komplement bestehende Antikörper sind. Bezüglich der komplexen Konstitution der Immunopsonine vgl. S. 441.

Sind die Tropine mit den bakteriziden Ambozeptoren identisch?

Die Identifizierung der beiden Antistoffe geht auf die älteren Anschauungen Metschnikoffs zurück, wonach die Bakterienauflösung durch Ambozeptor-Komplement unter natürlichen Bedingungen nur innerhalb der Phagocyten stattfinden sollte: nur infolge von „Phagolyse" sollte das Komplement aus den Zellen austreten und dann ausnahmsweise zu extracellulärer Bakteriolyse Veranlassung geben. Nun haben aber weiterhin Metschnikoff und seine Schüler schon bald nach der Entdeckung der bakteriziden Immunkörper behauptet, daß dieselben auch phagocytosebefördernd wirken; Levaditi hatte auch bereits in vitro die Verstärkung der Phagocytose von Choleravibrionen durch inaktives Immunserum festgestellt. Da nach Metschnikoff das Komplement normalerweise stets innerhalb der Leukocyten enthalten sein sollte, so erschien es als eine Konsequenz dieser Lehre, daß der auf den Bakterien fixierte Ambozeptor seine eigentliche Bestimmung in der Regel nur innerhalb eines Leukocyten erfüllen könne; allerdings wurde damit dem Ambozeptor eine ganz neue Eigenschaft beigelegt, die mit seiner eigentlichen Funktion, das Komplement auf der Bakterienzelle zu verankern, in keinem erkennbaren Zusammenhange steht.

Gegen die Identität der Tropine mit den bakteriziden Ambozeptoren sprechen die folgenden Tatsachen.

1. Manche Immunsera, wie vor allem das Streptokokken-, Pneumokokken- und Rotlaufserum (Neufeld & Kandiba), enthalten nur Tropin, aber keine lytischen Ambozeptoren; dasselbe war der Fall bei den von Hüne und mir untersuchten Paratyphussera, bei antibakteriellen Di-

phtheriesera (Lindemann) sowie bei einzelnen Antierythrocytenseris. Auch bei längerer Beobachtungszeit ließ sich bei den genannten Seris eine abtötende Wirkung des mit Komplement versetzten Immunserums nicht nachweisen, während eine solche bekanntlich bei den Immunseris gegen Cholera, Typhus, Ruhr, Vibrio Metschnikoff u. a. aufs unzweideutigste zutage tritt.

Nun haben Pfeiffer, Wassermann u. a. die Annahme vertreten, daß die Lysine und Tropine der Immunsera identisch seien, und daß es von der Art der Bakterien abhänge, ob vorwiegend Lysis oder Phagocytose eintrete: bei leicht auflösbaren Arten, wie vor allem den Choleravibrionen, trete die Auflösung im freien Serum in den Vordergrund, andere dagegen, wie die Streptokokken, setzten der Lösung starken Widerstand entgegen, so daß die lytische Destruktion sich sehr in die Länge ziehe, daher hätten hier die Leukocyten Zeit, sich zu sammeln und die Abtötung zu vollenden. Die Autoren haben jedoch keinen Anhaltspunkt für ihre Annahme beigebracht, daß z. B. Streptokokken oder Pneumokokken im Serum eine, wenn auch langsame, Abtötung erfahren. Bezüglich der Pneumokokken liegen neuere eingehende Untersuchungen von Dold vor, wonach hochwertige Antisera weder mit Komplement von Menschen und Meerschweinchen, noch mit dem von Kaninchen und Mäusen irgendeine Andeutung bakterizider Wirkung erkennen lassen; sie enthalten also sicher keine bakteriziden Ambozeptoren. Bei diesen Versuchen ergab sich aber ferner, daß das Serum (und Plasma) der letztgenannten beiden Tierarten, die für virulente Pneumokokken maximal empfänglich sind, auch an sich gar keine bakterizide Wirkung besitzt, während dem Serum und in höherem Grade dem Plasma von Menschen (und Meerschweinchen) eine deutliche, wenn auch geringe bakterizide Wirkung zukommt. Nun hätte man vielleicht erwarten können, daß sich dieselben Serumarten auch durch eine gewisse phagocytäre Wirkung auf Pneumokokken gegenüber dem Serum des Kaninchens und der Maus auszeichnen würden; dies ist aber durchaus nicht der Fall, vielmehr wirken die Sera aller genannten Tierarten nur auf avirulente Pneumokokken phagocytoserregend, während merkwürdigerweise die bakterizide Kraft des Menschenserums sich gegenüber virulenten Stämmen deutlich stärker geltend macht, als gegenüber avirulenten. Wir sehen also, daß da, wo wirklich bakterizide Serumstoffe (allerdings nicht bakterizide Ambozeptoren) gegen Pneumokokken auftreten, sie durchaus nicht phagocytoseerregend wirken.

Im Paratyphusserum hat Bezzola im Gegensatz zu Neufeld & Hüne bei besonderer Versuchsanordnung Andeutungen einer komplexen bakteriolytischen Wirkung in vitro gesehen. Es ist wohl möglich, daß sich verschiedene Paratyphusstämme in bezug auf spezifische Bakteriolyse verschieden verhalten; die von Bezzola beschriebenen bakteriolytischen Serumwirkungen sind aber quantitativ so geringfügig, daß sie schon deswegen kaum als Ursache der bereits in ganz starken Serumverdünnungen erfolgenden spezifischen Phagocytose angesehen werden können.

2. Bei denjenigen Sera, welche sowohl cytotrop wie cytolytisch wirken, geht die Stärke beider Wirkungen nicht immer parallel, wie es doch der Fall sein müßte, wenn beide auf der gleichen Ursache beruhten, sondern es ergeben sich häufig sehr starke Differenzen. Hier sind die Bakterien bzw. die Zellen, auf die der Immunkörper und das

Komplement ihre Wirkung ausüben, jedesmal die gleichen; der Unterschied kann also nur im Serum liegen.

Daß der bakteriotrope und der (durch Plattenversuche festgestellte) bakterizide Titre bei Typhusimmunserum weit auseinander gehen können, wiesen Neufeld & Hüne an menschlichen Typhussera nach; sie bestätigten dabei den Befund von Töpfer & Jaffé, daß die Sera von Typhuskranken im Beginn der Krankheit im allgemeinen im Plattenversuch einen relativ starken, im Tierversuch dagegen einen sehr schwachen Ausschlag geben, während Rekonvaleszentensera das umgekehrte Verhalten zeigen. Neufeld & Lindemann fanden, daß einzelne Typhusstämme (bei Verwendung desselben Immunserums) eine sehr starke spezifische Phagocytose, dagegen fast gar keine Bakteriolyse zeigten, während andere Stämme sich gerade umgekehrt verhielten (partielle Serumfestigkeit).

Für Cholerasera besteht nach Bächer ebenfalls keine Parallelität zwischen bakteriotroper und lytischer Wirkung.

Am beweisendsten sind aber die Ergebnisse, die Neufeld & Bickel, ferner Barrat, Hectoen, Keith an Antierythrocytensera erhielten, um so mehr als der hämolytische Reagenzglasversuch ein sehr viel einfacheres und exakteres quantitatives Arbeiten gestattet als der bakterizide Plattenversuch.

Es ergab sich, 1) daß bei der Vorbehandlung von Tieren mit Blutkörperchen fremder Species in manchen Fällen ausschließlich Hämotropin, in andern Fällen ausschließlich Hämolysin auftritt. 2) Werden, wie es in den meisten der von Neufeld & Bickel untersuchten Fälle geschah, beide Antikörper gebildet, so treten sie oft nicht gleichzeitig, sondern unabhängig voneinander auf und verschwinden wiederum zu verschiedener Zeit. Die Differenzen können bisweilen sehr eklatant sein: so ergab der Vergleich zweier von dem gleichen Versuchstier zu verschiedenen Zeiten entnommenen Serumproben, daß die erste Probe etwa zehnmal mehr hämolytischen Ambozeptor enthielt, als die zweite, während umgekehrt die zweite Probe annähernd hundertmal stärker phagocytosebefördernd wirkte, als die erste. Bezzola hat gegen diese Versuche zu Unrecht den Vorwurf erhoben, die negativen Resultate bei den Phagocytoseversuchen könnten durch Hemmungserscheinungen vorgetäuscht sein, die besonders bei älteren Serumproben auftreten könnten. Wie in der Entgegnung von Neufeld ausgeführt wurde, kann eine Täuschung durch derartige Hemmungen (s. o. S. 415) bei Benutzung abgestufter Serumverdünnungen wohl nicht in Frage kommen; übrigens werden gerade bei den in Frage stehenden Versuchen von Neufeld & Bickel frische Serumproben benutzt. Auch der von Levaditi bei einer Besprechung dieser Versuche erhobene Einwand, daß die gefundenen Differenzen auf der verschiedenen Aktivität der jeweils benutzten Leukocyten beruhen könnten, ist nicht zutreffend; es sind, ebenso wie bei den Versuchen von Hüne und mir, die betreffenden Serumproben stets gleichzeitig mit denselben Leukocyten geprüft worden; übrigens sind die entscheidenden Versuche drei- und mehrmal wiederholt worden und haben stets dasselbe Resultat ergeben. Auch v. Egoroff sah bei seinen Versuchstieren das Hämotropin langsamer auftreten und verschwinden als das Lysin. 3) Aus einem Antihammelserum von Kaninchen, das sowohl an Lysin als an Tropin reich war, konnte auf zweierlei Weise, nämlich entweder durch kurzdauernde Absorption

bei 0°, oder durch Digerieren mit einer sehr kleinen Blutkörperchenmenge bei 37° das Hämolysin annähernd vollständig entfernt werden, während das Hämotropin zum größten Teil erhalten blieb. Auch HECTOEN berichtet über einen Fall, in dem eine Trennung durch Absorption gelang. 4) HECTOEN fand, daß ein Serum nach Erhitzen auf 70° (in unverdünntem Zustande) seine hämolytische Fähigkeit verloren, die hämotrope Wirkung dagegen behalten hatte. Auch NEUFELD & BICKEL fanden in einem 1 :10 verdünnten, 3 Wochen bei 60° gehaltenen Serum das Hämolysin zerstört, die cytotrope Substanz dagegen erhalten; sie legen diesem Befunde jedoch nicht die gleiche Beweiskraft wie den anderen, oben erwähnten bei, weil durch das Erhitzen möglicherweise nur die komplementophile Gruppe des Ambozeptors geschädigt sein könnte.

3. Ein dritter gewichtiger Grund gegen die Identifizierung der cytotropen Stoffe mit den Ambozeptoren ist die unten ausführlich erörterte Tatsache, daß die Phagocyten gar kein Komplement enthalten, das imstande wäre, einen mit eingeführten Ambozeptor zu komplettieren. Wenn man diesen Nachweis als erbracht ansieht, so erscheint es schon aus diesem Grunde unlogisch, dem phagocytosebefördernden Immunkörper einen Ambozeptorcharakter zuzuschreiben; wir müßten sonst in einem rein bakteriotropen, z. B. dem Antistreptokokkenserum, einen Ambozeptor annehmen, der weder im Serum noch in den Leukocyten ein passendes Komplement findet, also nirgends die eigentliche Funktion eines Ambozeptors (Sensibilisators nach BORDET) ausüben kann. Erwähnt sei auch, daß BESREDKA bei einem hochwertigen Streptokokkenserum die Fähigkeit der Komplementbindung vermißte, — ein Befund, der allerdings nach den neueren Anschauungen über Komplementablenkung nicht die Abwesenheit von Ambozeptoren beweist.

4. Die Tropine üben, wie die Reagenzglasversuche unzweideutig lehren, ihre Wirkung ohne jede Beteiligung von Komplement aus, während bekanntlich die Ambozeptoren auch in größtem Ueberschuß bei Fehlen von Komplement absolut keine Wirkung haben. Diese Differenz spricht meines Erachtens schon für sich allein aufs deutlichste dagegen, daß die durch Tropine hervorgerufene Phagocytose als eine Wirkung bakteriolytischer Ambozeptoren aufzufassen ist. Die Autoren, welche für eine Identität der Tropine mit den Immunambozeptoren plädieren, haben sich nicht darüber ausgesprochen, ob sie annehmen, daß der Ambozeptor für sich allein die Phagocytose bewirken kann, oder ob dabei in jedem Falle noch ein Komplement mitwirken soll. Die letztere Annahme würde den sonstigen Vorstellungen über die Wirkungsweise eines Ambozeptors entsprechen; denn es wurde bisher allgemein, nicht nur von EHRLICH, sondern auch von BORDET angenommen, daß der Ambozeptor ausschließlich die Funktion hat, die Zelle, an die er sich verankert, der Einwirkung des Komplements zugänglich zu machen, daß er aber sonst keinerlei Veränderungen hervorruft. Nimmt man aber an, daß der Ambozeptor die Phagocytose erst nach Zutritt von Komplement auslöst, so muß man natürlich fragen, woher das Komplement im Reagenzglasversuch stammt. Daß den Leukocyten stets Komplement anhaftet, ist kaum anzunehmen; falls das die Bedingung für den Eintritt der Phagocytose ist, so sollte dieselbe doch nach sechsmaligem Waschen der Leukocyten endlich ausbleiben oder sich mindestens deutlich verringern: das ist aber

nicht der Fall. Daß auch eine Sekretion von Komplement durch die Leukocyten nicht in Frage kommt, und daß die Leukocyten überhaupt kein Komplement enthalten, wird unten erörtert werden. Auch fand Neumann, daß Leukocytenextrakt keine opsonische Wirkung besitzt, dasselbe bestätigt Schneider für Leukocytensekrete.

Den deutlichsten Beweis gegen die Annahme, daß bei der Wirkung der Tropine das Komplement eine Rolle spielt, liefern jedoch meiner Ansicht nach die Beobachtungen über die Opsonine. Oben ist dargelegt worden, daß die phagocytosebefördernde Wirkung dieser Stoffe auf einem Zusammenwirken von Ambozeptoren und Komplement beruht: wir haben hier also eine Klasse von Antistoffen vor uns, die nur bei Gegenwart von Komplement Phagocytose auslösen (und zwar genügen dazu oft sehr geringe Mengen von Komplement), und wir können aufs deutlichste konstatieren, daß sie sich absolut entgegengesetzt verhalten, wie die cytotropen Stoffe. Sobald das opsoninhaltige Serum auf 55°—60° erhitzt oder das darin enthaltene Komplement in irgendeiner anderen Weise unwirksam gemacht wird, bleibt die opsonische Wirkung aus; wenn die Leukocyten nur einigermaßen sorgfältig gewaschen sind, zeigt sich, daß ihnen kein wirksames Komplement mehr anhaftet, und nirgends ist beobachtet worden, daß das fehlende Komplement von den Leukocyten durch Sekretion geliefert werden kann.

Sind die opsonischen Ambozeptoren mit bakteriziden Ambozeptoren identisch?

Nachdem die komplexe Konstitution der Opsonine erwiesen war, lag es nahe, dieselben mit den Bakteriolysinen zu identifizieren und eine solche Annahme ist zunächst vielfach gemacht worden. Dann mußte man jedoch die Hilfshypothese heranziehen, daß bei manchen Bakterienarten die komplexen Lysine auch in reichlicher Menge niemals lytisch, sondern nur opsonisch wirken.

Schon Wright hat in Gemeinschaft mit Windsor und Douglas exakt nachgewiesen, daß das für Staphylokokken, Pestbacillen und den Erreger des Maltafiebers stark opsonische menschliche Serum auf diese Bakterien nicht im geringsten abtötend, ja nicht einmal entwicklungshemmend wirkt. Ebenso wies Hectoen darauf hin, daß Milzbrandbacillen, Strepto- und Pneumokokken in einem stark opsonisch wirkenden Serum ungehemmt wachsen, und entsprechende Fälle sind vielfach gefunden worden; ich erinnere an die starke opsonische Wirkung des Normalserums bei Paratyphus (Meyer u. a.) bei gänzlichem Fehlen bakterizider Wirkung (Töpfer & Jaffé, Neufeld & Hüne). In den oben besprochenen Versuchen von Neufeld & Bickel zeigten die durch Immunambozeptor plus Komplement zur Phagocytose präparierten Blutkörperchen nicht die geringste Neigung zur Hämolyse; man darf also in diesem und in entsprechenden Beobachtungen an Bakterien die Opsoninwirkung nicht als eine bloße Folgeerscheinung der Lysis auffassen. Die früher anläßlich des Streites der „cellulären" und „humoralen" Theorie der Immunität oft geäußerte, neuerdings noch durch v. Baumgarten vertretene Anschauung, als ob die Phagocyten die Rolle von „Totengräbern" spielten, indem sie nur abgestorbene oder doch der Auflösung nahe Bakterien aufnähmen, ist durch zahllose Beobachtungen in vivo wie in

vitro wohl endgültig widerlegt; die Bedeutung der Opsonine würde daher durch eine Identifizierung mit den lytischen Immunstoffen nicht herabgesetzt werden, zumal man dann annehmen müßte, daß die opsonische Wirkung dieser Stoffe in der Regel noch bei weit höherer Verdünnung eintritt, als die lytische.

Auch bei Tuberkelbacillen sehen wir eine starke Opsoninwirkung des Normal- und oft in noch höherem Grade des Immunserums, während eine lytische Wirkung vollkommen fehlt. Im Antidiphtherieserum sind nach Sauerbeck, Gruber, Ohkubo, Lindemann oft reichlich Opsonine enthalten, eine bakterizide Wirkung ist dabei entgegen der Vermutung Sauerbecks durchaus nicht nachzuweisen.

Die Annahme, daß in allen diesen Fällen echte Bakteriolysine wirksam sind, die aber auch bei langer Einwirkung keine Andeutung einer wirklichen Bakteriolyse erkennen lassen, erscheint wohl von vorneherein recht gezwungen; auch ist die Annahme eines einzigen Antikörpers, der zwei verschiedene Wirkungen ausüben kann, wovon aber sehr häufig aus unbekannten Gründen nur die eine sichtbar wird, wohl kaum einfacher als die von zwei verschiedenen Antikörpern. Der Anschauung v. Grubers, daß mit dem Nachweis, daß die Opsoninwirkung an die Mitwirkung von Komplement gebunden ist, auch die Folgerung gegeben sei, daß die opsonischen bakteriziden Ambozeptoren identisch sein müßten, möchte ich nicht beistimmen. Vielmehr scheint mir nach dem jetzt vorliegenden Tatsachenmaterial die von Hectoen, Fornet u. a. vertretene Annahme einer Verschiedenheit beider Stoffe als die wahrscheinlichste.

Die naheliegende Vorstellung, daß in Auflösung begriffene Bakterien bzw. Zellen eo ipso gefressen werden, ist nicht zutreffend: das Gegenteil sehen wir sowohl im Tierkörper (z. B. nach Lindemann bei Injektion abgetöteter virulenter Pneumokokken, die sich in den Körpersäften schnell auflösen) als in vitro (Beobachtungen von Neufeld & Bickel an teilweise hämolysierten Blutkörperchen) nicht selten. Es scheint somit nicht die beginnende Auflösung, sondern ein anderes Moment, vielleicht eine Veränderung der Oberflächenspannung der Zellmembran die Vorbedingung für die Aufnahme zu sein.

Bereits oben wurde ferner auf die Beobachtungen von Dold hingewiesen, wonach gewisse Sera (Menschen-, Meerschweinchenserum) eine deutliche (auf nicht-komplexen Stoffen beruhende) bakterizide Wirkung gegenüber Pneumokokken besitzen, und zwar besonders gegenüber virulenten Stämmen; diese werden von denselben Seris aber nicht im mindesten opsonisch beeinflußt, während auf avirulente Pneumokokken die Sera von Mäusen und Kaninchen, die gar keine bakterizide Kraft besitzen, ebensogut opsonierend wirken, wie die bakteriziden Menschen- und Meerschweinchensera.

Während Dean bei der Kombination Normalkaninchenambozeptor-Meerschweinchenkomplement eine annähernde Parallelität zwischen opsonischer und bakterizider Wirkung auf Typhusbacillen fand, sah Amberg keine solche Parallelität, ebensowenig (bei Cholerabacillen) Amako. Besonders beweisend dürften die neuerdings von Bürgers mitgeteilten Beobachtungen sein, der in eingehenden Versuchen an Normalsera von Erwachsenen und Neugeborenen bisweilen recht starke Differenzen zwischen opsonischer und bakterizider Wirkung auf Ruhrbacillen feststellte. Betreffs der Immunopsonine

liegen wohl noch keine eingehenden Versuche vor; zu solchen würden sich vielleicht Antierythrocytensera besonders eignen.

Sind die Tropine mit den opsonischen Ambozeptoren identisch?

Die Annahme einer Identität der opsonischen Ambozeptoren mit den Tropinen ist insbesondere von Dean, Hectoen, Sleeswijk vertreten worden. In der Tat sehen wir ja sehr häufig, daß inaktivierte Sera cytotrop oder bakteriotrop wirken und daß diese Wirkung durch Zufügen von Komplement verstärkt wird, und man hat daher für die Fälle, in denen das inaktive Serum gänzlich unwirksam ist, angenommen, daß hier die Ambozeptoren nicht in genügender Konzentration vorhanden seien, um für sich allein Phagocytose zu bewirken. Nach dieser Auffassung würde es nur auf quantitativen Unterschieden beruhen, wenn die Normalsera meist nur in aktivem Zustande, die Immunsera dagegen auch inaktiv wirksam sind.

Wenngleich diese Anschauung zunächst als eine willkommene Vereinfachung der Hypothesen erscheint, so stehen ihr doch bisher erhebliche Bedenken entgegen. Zunächst ein theoretisches Bedenken: bei den viel genauer bekannten hämolytischen und bakteriziden Ambozeptoren liegen die Verhältnisse sicher nicht so, daß der an sich schon vorhandene Effekt des Ambozeptors durch Komplement nur verstärkt wird, diese Ambozeptoren üben auch in stärkstem Ueberschuß für sich allein niemals eine lytische Wirkung aus. Aber auch gewisse Einzelbeobachtungen sprechen dagegen, daß zwischen Tropin- und Opsoninwirkung lediglich quantitative Unterschiede bestehen. Es gibt zahlreiche Fälle, in denen Normalopsonine sehr stark und noch in erheblicher Verdünnung phagocytosebefördernd wirken, während ich andererseits sehr häufig ganz schwach phagocytäre (Ruhr-, Pneumokokken-, Meningitis- u. a.) Immunsera untersucht habe, die vollkommen den Charakter der stabilen und nicht-komplexen Tropine zeigten. Umgekehrt fanden v. Gruber und Ohkubo in den von ihnen untersuchten Diphtheriesera nur komplexe Stoffe (Immunopsonine), aber keine Tropine.

Bestände die Ansicht von Dean, Sleeswijk, Hectoen zu Recht, so müßte sich bei einem bis zur Grenze der Wirksamkeit verdünnten Immunserum eine „Reaktivierung“, d. h. eine Verstärkung durch Komplementzusatz *in jedem Falle* demonstrieren lassen. Das ist aber nicht der Fall, wie ich für Typhussera, Meningokokkensera, Rotlaufsera gefunden habe, und wie Händel für Ruhrsera nachgewiesen hat. Dabei handelt es sich hier um Bakterienarten, denen gegenüber das frische Normalserum stark opsonisch wirkt, dasselbe müßte also wohl ein zur Reaktivierung geeignetes Komplement enthalten. Allerdings kann man in bestimmten Fällen durch Zusammenwirken von verdünntem Immunserum und Komplement eine Phagocytose erzielen, solche Fälle haben Dean u. a. für antibakterielle, Bickel und ich für Antierythrocytensera näher studiert: hier handelt es sich aber meines Erachtens nicht um Reaktivierung von Tropinen, sondern von gleichzeitig vorhandenen opsonischen Ambozeptoren.

Nun sind Komplettierungsversuche ja bei schwach wirksamen hämolytischen oder bakteriolytischen Seris (besonders Normalseris) bisweilen mit Schwierigkeiten verbunden, bei jedem stärkeren Immun-

serum ist aber der Nachweis der komplexen Wirkung bei Hämolysinen und Bakteriolysinen mit solcher Einfachheit und Sicherheit zu führen, daß man erwarten sollte, auch jedes tropinhaltige Immunserum müßte sich ohne weiteres durch Komplementzusatz aktivieren lassen, wenn die Tropine in der Tat nichts anderes als opsonische Ambozeptoren wären. Dies war aber wenigstens in den Versuchen von NEUFELD & RIMPAU mit Strepto- und Pneumokokkenseris sowie in zahlreichen späteren Versuchen von mir mit verschiedenen Seris nicht der Fall.

Neuerdings haben dagegen BÜRGERS & MEISNER beachtenswerte Versuche mitgeteilt, denen zufolge eine erhebliche Verstärkung der Wirkung von inaktiven Immunsera durch Zusatz von Komplement regelmäßig gelang, und zwar auch bei Versuchen mit virulenten Strepto- und Pneumokokken, die vom frischen Normalserum allein gar nicht beeinflußt wurden. Hier trat nicht nur eine Verstärkung der schon im inaktiven Serum vorhandenen Phagocytose bei Komplementzusatz ein (eine solche ist meines Erachtens oft lediglich durch den schon erwähnten Umstand bedingt, daß die Leukocyten in Gegenwart von frischem, insbesondere homologem Serum doch aktiver als in Kochsalzlösung zu sein pflegen), sondern es wurden auch kleine Immunserummengen durch Zusatz von (verdünntem) Komplement überhaupt erst wirksam. Worauf die Differenzen mit meinen früheren Versuchen beruhen, läßt sich zunächst nicht entscheiden; zu beachten ist aber, daß die von BÜRGERS untersuchten Sera starke Hemmungen hervorriefen, so daß eine Phagocytose von Strepto- und Pneumokokken überhaupt nur im Bindungsversuch eintrat, nicht aber beim Mischen von Serum, Bakterien und Leukocyten. Uebrigens fanden dieselben Autoren bei der Agglutination ebenfalls regelmäßig (wenn auch in geringerem Grade) eine Verstärkung durch Komplement. Auch SAVTSCHENKO & BARIKINE sahen regelmäßig eine Verstärkung der Phagocytose von sensibilisierten Erythrocyten durch 1:40 verdünntes Komplement, aber nur dann, wenn es von der gleichen Tierart stammte wie die benutzten Leukocyten; sie sehen die Ursache in der Anregung der Leukocyten.

Die bisher bekannten Tatsachen scheinen mir überwiegend für eine Trennung der in Rede stehenden Serumstoffe zu sprechen; dieser Ansicht hat sich auch v. GRUBER angeschlossen. Die Annahme einer Identität der Tropine und Opsonine würde wohl auch in Wirklichkeit keine Vereinfachung bedeuten, da man alsdann allerlei Hilfshypothesen heranziehen müßte, um zu erklären, weshalb so oft die eine oder die andere Wirkung dieses Antikörpers latent bleibt. Zu weiteren Untersuchungen, die zur Aufklärung der noch vorhandenen Zweifel erwünscht sind, wären vielleicht Versuche mit verschiedenartigen und durch möglichst verschiedene Art der Vorbehandlung gewonnenen Antiblutkörperchensera am geeignetsten, wobei alle drei Antistoffe, Tropine, opsonische und lytische Ambozeptoren exakt bis zur Titergrenze auszuwerten wären.

Beziehungen der phagocytären Serumstoffe zu anderen Antikörpern.

Die Vermutung, daß die Tropine mit den Agglutininen identisch sein könnten, ist gelegentlich von DENYS (Ref. a. d. Brüsseler Hygienekongreß) ausgesprochen worden, auch v. GRUBER hat neuerdings diese Möglichkeit gestreift. Von zahlreichen Autoren ist aber

berichtet worden, daß zwischen Agglutination und Tropinwirkung durchaus keine Parallelität herrscht und daß stark phagocytäre Sera ohne Agglutininwirkung und umgekehrt agglutinierende ohne Tropingehalt nicht selten sind; ich selbst verfüge über viele derartige Beobachtungen.

Allgemeines zur Frage der Unterscheidung der einzelnen Antikörper voneinander.

Schließlich sei noch auf einige allgemeine Gesichtspunkte bezüglich der Frage nach der Konstitution der Antikörper überhaupt und ihrer Unterscheidung voneinander hingewiesen. Von vielen Autoren wird ja jetzt überhaupt ein mehr unitaristischer Standpunkt vertreten. Ich möchte nun Bordet (Zeitschr. f. Immunitätsf., Ref., Bd. I) vollkommen darin beistimmen, daß eine grundsätzlich verschiedene „Konstitution", z. B. von Agglutininen und Ambozeptoren sich nicht erweisen läßt, und daß man die verschiedenen Wirkungen derselben auch durch die Verschiedenheit der antigenen Gruppen, an denen sie angreifen, erklären kann; genau genommen sollten wir also die Eigenschaften, nach denen wir die Antistoffe benennen, nicht diesen selbst, sondern dem Komplex Antistoff-Antigen zuschreiben. Auch die Unterschiede zwischen opsonischen und bakteriziden Ambozeptoren kann man sich vielleicht am einfachsten in der Weise vorstellen, daß sie an verschiedenen Stellen angreifen, und daß es deshalb in einem Falle nur zur Anregung der Phagocytose, im anderen zur Destruktion des Bakteriums kommt. Schon aus praktischen Gründen wird man aber wohl immer dabei bleiben, die Antikörper nach ihrer Wirkung zu benennen. Wenn nun aber manche Autoren glauben, die präzipitierenden, lytischen, komplementbindenden, phagocytoseerregenden, anaphylaktischen Antikörper überhaupt identifizieren zu sollen, so scheint mir das nicht eine Vereinfachung, sondern eine Komplikation der Theorien zu bedeuten, da wir alsdann einer Reihe von Hilfsannahmen bedürfen, um zu erklären, warum in einem bestimmten Fall *eine* Wirkung des vielseitigen Antikörpers überwiegt, eine andere nur schwach, eine dritte gar nicht erkennbar ist. Gewiß ist es möglich, daß spätere Forschungen einmal die wirkliche Konstitution der einzelnen Antikörper und den Zusammenhang zwischen ihnen aufdecken werden; *vorläufig können wir sie aber nur an ihrer Wirkung erkennen, und wir haben daher im Grunde kein anderes Kriterium für Identität bezw. Verschiedenheit zweier Antistoffe, als die Feststellung, ob sie bei exakter Untersuchung und Ausschluß aller erkennbaren Fehlerquellen parallel miteinander oder unabhängig voneinander auftreten. Wenn wir daher zu der Ueberzeugung kommen, daß z. B. bei Antimeningokokkenseris die komplementbindenden Immunstoffe mit den bakteriziden und beide wiederum mit den phagocytären Antikörpern nicht parallel gehen und daß schließlich von diesen letzteren wieder solche, die für sich allein Phagocytose hervorrufen, unabhängig von anderen auftreten, die dieselbe Wirkung nur bei Beteiligung von Komplement ausüben, so haben wir die Berechtigung und zugleich das praktische Interesse, die genannten Antikörper voneinander zu unterscheiden.*

In diesem Sinne sind auch die obigen Ausführungen über die Konstitution und die Verschiedenheit von Tropinen, Opsoninen und Lysinen aufzufassen.

Parallelität der in vitro und in vivo beobachteten Phagocytose.

Die Bedeutung der Bakteriotropine und Opsonine für die Immunität ist natürlich an die Voraussetzung geknüpft, daß zwischen dem Verhalten der Phagocyten zu den Bakterien in vitro und in vivo eine Uebereinstimmung besteht. Dieser wichtige Punkt ist für die Streptokokken und Pneumokokken und deren spezifische Beeinflussung durch Immunserum durch die mehrfach zitierten, grundlegenden Versuche Denys' und seiner Schüler Leclef, Marchand, Mennes klargestellt worden; Neufeld & Rimpau u. a. haben das gleiche Ergebnis gehabt. Für die Typhus- und Cholerainfektion der Meerschweinchen haben Neufeld & Hüne die bekannten Angaben Metschnikoffs insoweit durchaus bestätigt, als sie eine zweifellose Steigerung der Phagocytose unter dem Einfluß des Immunserums feststellen konnten. Im Vergleich mit den Versuchen mit virulenten Strepto- und Pneumokokken ist hier insofern ein anderes Verhalten zu konstatieren, als neben der Phagocytose die spezifische Bakteriolyse auftritt, wobei das Verhältnis der im freien Serum aufgelösten und der von Phagocyten aufgenommenen Bakterien natürlich von einer Reihe von Faktoren abhängig ist und sehr verschieden sein kann; Neufeld & Hüne glauben, daß man in jedem Falle beide Phänomene nebeneinander beobachten kann. Dieselben Autoren fanden die Wirkung des bakteriotropen Paratyphus- und Hogcholeraserums auf die Bakterien dieser Gruppe im Meerschweinchenperitoneum sehr ausgesprochen. Bei Colistämmen hat Löhlein die Parallelität der Vorgänge im Reagenzglase und im Tierkörper verfolgt. Das Meningokokkenserum übt nach Jochmann, Kraus & Bächer seine bakteriotrope Wirkung auch im Meerschweinchenperitoneum aus, wobei sich auch die abtötende Wirkung der spezifischen Phagocytose durch Plattenaussaat erweisen ließ. Wie die zahlreichen Beobachtungen von Flexner & Jobling lehren, tritt eine spezifische Phagocytose unter dem Einfluß des Heilserums auch im Meningealraum von Genickstarrepatienten und von infizierten Affen aufs deutlichste zutage. Die Phagocytose von Blutkörperchen unter dem Einfluß von Antiserum im Tierkörper ist bekanntlich von Metschnikoff u. a. vielfach festgestellt worden.

Besonders deutlich war die Parallelität der phagocytären Vorgänge in den Versuchen Ungermanns mit typischen und atypischen Pneumokokkenstämmen; sowohl in vitro wie im Mäuseperitoneum wirkten die mit solchen Stämmen hergestellten Sera ausschließlich auf den homologen Stamm ein und die völlige Uebereinstimmung der drei sichtbaren Serumwirkungen: Phagocytose in vitro, Phagocytose in vivo, und Schutzwert im Tierversuch lassen wohl keinen Zweifel an ihrem ursächlichen Zusammenhange. Schneider sah bei Pneumokokkensera Schutzkraft und Tropingehalt quantitativ parallel gehen; wenn demgegenüber Römer bei zahlreichen vorbehandelten Tieren keine Tropine fand, so beweist das nichts, da er die Schutzkraft derselben Sera im Tierversuch nicht geprüft hat. So ist bei

den Tropinen die Parallelität der phagocytären Vorgänge in vivo und in vitro wohl in allen bisher untersuchten Fällen festgestellt.

Eine befriedigende Uebereinstimmung zwischen den Vorgängen in vitro und in vivo zeigt sich im allgemeinen auch in bezug auf die spontan oder durch Einfluß eines Normalopsonins erfolgende Phagocytose; welcher von beiden Fällen vorliegt, kann man daher natürlich in vivo nicht unterscheiden (es sei denn, daß man durch besondere Präparierung, z. B. der Bauchhöhle mit einem komplementbindenden System die Opsoninwirkung vorübergehend ausschaltet). Avirulente Stämme werden meist im Tierkörper stark phagocytiert und dementsprechend unterliegen sie auch im Reagenzglase, sei es spontan, sei es bei Zusatz von Normalserum, der Phagocytose. Aber auch in den Fällen, wo virulente Bacillen, wie die Tuberkelbacillen, im Tierkörper ohne Mitwirkung eines Immunstoffes von Phagocyten angenommen werden, sehen wir dasselbe in vitro.

In einzelnen Fällen schien es aber zunächst, als ob zwischen dem Reagenzglasversuch und den Befunden im Tierkörper ein prinzipieller Unterschied bestände. So werden virulente Milzbrandbacillen durch die Leukocyten empfänglicher Tiere im Reagenzglase lebhaft gefressen, wie Löhlein, Lambotte & Stiennon, Gruber & Futaki fanden. Die Untersuchungen von Löhlein und Gruber & Futaki haben diese scheinbare Differenz dahin aufgeklärt, daß die genannten Bakterien im Tierkörper (sowie auch in vitro beim Wachstum in Serum) sich mit Kapseln umgeben, und daß sie alsdann vor den Phagocyten geschützt sind; bringt man solche „Kapselbacillen" in vitro mit Phagocyten zusammen, so bleibt auch hier die Phagocytose aus. Andererseits stellten Deutsch und Löhlein fest, daß auch in der Bauchhöhle von Meerschweinchen nach Injektion von virulentem Milzbrand zunächst eine sehr lebhafte Phagocytose einsetzt, daß aber nach etwa 20 Stunden eine „zweite Generation", nämlich eine von kapseltragenden Bacillen erscheint; diese leisten den Phagocyten Widerstand und vermehren sich unaufhaltsam. Es ergibt sich also völlige Uebereinstimmung der Vorgänge in vivo und in vitro. Diese Uebereinstimmung wird auch durch die neueren Versuche von Fischöder nicht in Frage gestellt, der im übrigen, ebenso wie Preisz der Auffassung v. Grubers bezüglich der Bedeutung der Kapselbildung für die Virulenz nicht zustimmt.

Gruber & Futaki fanden ferner, daß die Milzbrandbacillen von Hühnerleukocyten in ähnlicher Weise gefressen und verdaut werden wie andere Bakterienarten, während Kaninchen- oder Meerschweinchenleukocyten die Milzbrandfäden nur umklammern und an ihnen entlang fließen, sie nach einiger Zeit aber wieder freilassen. Auch hier sind aber nach Gruber die Milzbrandbacillen während der Umklammerung abgetötet worden („Kontakttötung"), der Endeffekt ist also derselbe. (In ähnlicher Weise können, wie Grubers Schüler Ruzicka beschrieben hat, auch Erythrocyten, ohne von den Phagocyten aufgenommen zu werden, einer Abtötung durch Kontakttötung verfallen.) Man konnte nun daran denken, daß bei Wachstum im Serum eines von Natur milzbrandimmunen Tieres, wie es das Huhn ist, die Kapselbildung ganz ausbleiben oder daß die Leukocyten des Huhnes die Fähigkeit zeigen würden, auch Kapselbacillen zu fressen. Das ist

nach Gruber & Futaki aber nicht der Fall; nach späteren Untersuchungen von Gruber & Futaki und Schneider beruht die Immunität in diesem Falle überhaupt nicht ausschließlich auf Phagocytose, sondern es spielen dabei neue, teils aus Leukocyten, teils aus Blutplättchen stammende Schutzstoffe, die in der Blut- und Lymphflüssigkeit der einzelnen Tierarten in sehr verschiedenem Maße vorhanden sind, eine Rolle.

Durchaus ähnliche Verhältnisse, wie beim Milzbrand fand Löhlein bei der Beobachtung der Phagocytose der Pestbacillen in vitro. Hochvirulente Pestbacillen werden im Reagenzglase von polynukleären Leukocyten der für Pest empfänglichsten Tiere, nämlich Ratten und Meerschweinchen, auch ohne Anwesenheit von Serum lebhaft gefressen. Spritzt man aber dieselben Bacillen in die Bauchhöhle von Meerschweinchen, bei denen man durch vorherige Injektion von Bouillon ein leukocytenreiches Exsudat hervorgerufen hat, so beobachtet man die gleiche lebhafte Phagocytose wie im Reagenzglase; nach einiger Zeit taucht dann die „zweite Generation" der Kapselbacillen auf, die für die Leukocyten unangreifbar sind und sich ungehemmt vermehren (Metschnikoff, Denys, Markl).

Daß sich im Tierkörper virulente Bakterien von avirulenten durch ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber den Phagocyten unterscheiden, ist von Metschnikoff u. a. vielfach hervorgehoben worden, es sei im einzelnen auf die Arbeiten von Massart, Bordet, Marchand, Zilberberg & Zeliony verwiesen (Literatur s. bei Eisenberg); bei Streptokokken hat Bordet dabei ebenfalls eine Kapselbildung beobachtet. Aber auch solche Bakterien, bei denen es nicht zu einer ausgesprochenen Kapselbildung kommt, können beim Wachstum im Tierkörper morphologische Unterschiede gegenüber der künstlichen Kultur zeigen, so nehmen Coli- und Typhusbacillen im Meerschweinchenperitoneum größere Dimensionen an (Radzievsky, Bail & Rubritius, Tsuda) und zeigen bei Giemsafärbung einen rosafarbenen „Ektoplasma"-saum um das blau gefärbte „Endoplasma" (Eisenberg). Obwohl die ersten Beobachtungen über derartige Veränderungen schon lange zurückliegen (es sei erinnert an die Arbeiten von Metschnikoff, Savtschenko, Heim, Bail, Preisz), so sind die prinzipiellen Verschiedenheiten, die derartige „tierische Bacillen" von den „Kulturbacillen" auch in biologischer Hinsicht bieten (so in bezug auf den Widerstand, den sie vielfach der bakteriziden und der agglutinierenden Serumwirkung entgegensetzen), erst neuerdings, zum Teil im Zusammenhang mit Bails Aggressinlehre, besonders eifrig diskutiert worden (vgl. die eingehende Arbeit von Eisenberg, ferner Löhlein). Man hat darin vielfach eine Art Gegenwehr der Bakterien gegen die schädlichen Einflüsse des Organismus gesehen, wofür die Beobachtung Danysz' spricht, daß Milzbrandbacillen sich in vitro bei Züchtung in arsenhaltigen Nährböden mit einer schützenden Schleimhülle umgeben. Was die Phagocytose solcher Kapsel- oder „tierischer" Bakterien betrifft, so liegen die Verhältnisse keineswegs überall so wie bei Pest- und Milzbrandbacillen, vielmehr werden die „tierischen" Bakteriengenerationen, wie die Beobachtung im Tierkörper, zum Teil auch in vitro gezeigt hat, z. B. bei Streptokokken, Pneumokokken, Typhusbacillen (Tsuda) gut von Phagocyten gefressen. Bei Strepto- und Pneumokokken besteht in bezug auf das Verhalten den Phagocyten gegenüber nicht zwischen Kultur- und „tierischen"

Bakterien oder zwischen gekapselten und kapselfreien Kokken, sondern nur zwischen virulenten und avirulenten Bakterien ein prinzipieller Unterschied.

Was nun die Frage betrifft, ob der Opsoninwirkung eines Serums im Reagenzglase der gleiche Effekt in vivo entspricht, so ist dieser wichtige Punkt von der Wrightschen Schule gar nicht berücksichtigt worden. Dagegen haben Gruber & Futaki den Nachweis geliefert, daß die opsonische Wirkung des Serums (speziell die des Meerschweinchenserums für Typhusbacillen) im Tierkörper ebensogut wie im Reagenzglase eintritt. Die Autoren injizierten Meerschweinchen intravenös eine bestimmte Zahl von Typhusbacillen; töteten sie die Tiere nach 5 bis 10 Minuten, so wurde im Blut und in den Organen nur ein ganz kleiner Bruchteil der Bacillen wiedergefunden. Daß diese Verminderung auf bakterizider Serumwirkung beruhen sollte, erschien unwahrscheinlich, da auch das wirksamste Serum längere Zeit braucht, um erhebliche Bacillenmengen abzutöten; die Untersuchung ergab aber auch, daß die ungeheuere Mehrzahl der polynukleären Leukocyten des Blutes mit Bacillen (bis zu 10—20 in einem Leukocyten) gefüllt war, die größtenteils schon in Granula verwandelt waren. Gruber & Futaki schließen aus dem beschriebenen Tierversuch (ebenso wie später Schneider aus ähnlichen Versuchen) auf die Präexistenz des „Alexins" im lebenden Blute, und betonen die große Bedeutung dieser „indirekten Alexinwirkung".

Auch in den älteren Versuchen der Metschnikoffschen Schule finden sich zahlreiche Beobachtungen, die für den Nachweis einer Opsoninwirkung in vivo zu verwerten sind, es sei speziell an die Befunde Bordets und Levaditis über die rapide Aufnahme von Choleravibrionen durch die Leukocyten des strömenden Blutes erinnert. Den deutlichsten Beweis für die Parallelität der Opsoninwirkung im Tierkörper liefern aber die oben (S. 440) ausführlich berichteten Versuche an Pneumo- und Streptokokkenstämmen verschiedener Virulenz.

Das Schicksal der aufgenommenen Bakterien.

Was geschieht mit den Bakterien, nachdem sie von den Leukocyten aufgenommen sind? Für die meisten der untersuchten Bakterienarten, nämlich Streptokokken, Pneumokokken, Meningokokken, Rotlauf-, Typhus-, Paratyphus-, Coli-, Shiga- und Flexnerruhrbacillen, für Cholera- und einige choleraähnliche Vibrionen ist der Nachweis geliefert worden, daß sie innerhalb der Zellen einer fortschreitenden Auflösung verfallen, die zum Teil mit Bildung von Granula, zum Teil unter anderen Degenerationsformen, wie kugeligen oder keulenförmigen Auftreibungen oder (wie bei den Kokken) einfach unter allmählichem Verlust der Färbbarkeit verläuft, bis schließlich die Bakterien restlos verschwinden; von den Details der Vorgänge kann man sich durch öftere Entnahme in verschiedenen Zeitabständen leicht überzeugen. Die Verarbeitung der gefressenen Mikroorganismen geht bei einigen Arten (besonders den Vibrionen) schneller, bei anderen, wie den grampositiven Kokken und manchen Paratyphusstämmen, erheblich langsamer von statten, sie ist jedoch bei allen oben genannten Arten durch die Beobachtungen von Denys, Leclef, Marchand, Gruber & Futaki, Neufeld, Rimpau, Hüne, Lambotte & Stiennon,

Weil, Löhlein, Dean, Bächer u. a. sichergestellt, ebenso auch für die Phagocytose von Erythrocyten und von Trypanosomen (Levaditi & Mutermilch). Soweit Beobachtungen darüber vorliegen, verläuft die intracelluläre Auflösung in vivo wie in vitro in derselben Weise. In beiden Fällen beobachtet man nicht selten, daß ein Leukocyt mehr Bakterien aufnimmt, als er verarbeiten kann, er kann durch die Giftwirkung der Bakterienstoffe seinerseits degenerieren.

Anfänglich wurde die Fähigkeit der Phagocyten, die aufgenommenen Keime aufzulösen, von vielen Seiten bestritten. So haben Wright & Douglas behauptet, daß, wenn man z. B. Cholera-, Ruhr- und Typhusbacillen in Granulaform in den Phagocyten findet, es sich dabei stets um Keime handle, die schon vorher durch Komplement in Granula umgewandelt seien; eine ähnliche Auffassung haben Pettersson (in seinen ersten Arbeiten), Böhme, sowie noch neuerdings (wohl in unberechtigter Verallgemeinerung seiner negativen Ergebnisse an Staphylokokken und Tuberkelbacillen) v. Baumgarten vertreten. Meiner Erfahrung nach kann man sich bei jedem Phagocytoseversuch, den man in vitro mit den genannten Bakterienarten in komplementfreiem Medium anstellt, sehr leicht vom Gegenteil überzeugen. Langsamer geht die Auflösung bei Strepto- und Pneumokokken vor sich; hier sieht man erhebliche Unterschiede zwischen den Leukocytenarten, so zeigen die Leukocyten der Maus und des Kaninchens nach meinen Beobachtungen deutlich stärkeres Verdauungsvermögen als die des Meerschweinchens. Die bei der Leishmanschen Technik benutzten Leukocyten des menschlichen Blutes vermögen die meisten Bakterien wohl noch schneller aufzulösen; man kann, insbesondere bei längerer Bebrütung, leicht alle Uebergangsformen, Granula, gequollene, schattenhafte, ganz blaßgefärbte Degenerationsstadien bis zur völligen Auflösung beobachten. Es ist ja allgemein bekannt, wie dadurch die exakte Zählung der gefressenen Keime zumal bei etwas längerer Bebrütung erschwert wird.

Die direkte mikroskopische Beobachtung gibt uns in dieser Hinsicht viel eindeutigere Resultate als der Plattenversuch; aber auch durch Plattenversuche ist gelegentlich von Denys, Hectoen, v. Gruber & Futaki, insbesondere aber mit einer eigenen Technik von Weil und seinen Mitarbeitern die bakterizide Wirkung der Leukocyten nachgewiesen worden. Daß man bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung, wobei die Leukocyten der Glaswand anhaften, während die meist in großem Ueberschuß zugesetzten Bakterien sich in der darüber stehenden Flüssigkeit ungestört vermehren, meist negative Resultate mit Plattenaussaat erhält, ist eigentlich selbstverständlich, und man darf daraufhin nicht, wie Werbitzki, den Phagocyten die Fähigkeit der Keimvernichtung absprechen. Auch die im nächsten Abschnitt besprochenen Versuche mit Leukocytenextrakten können die direkte mikroskopische Beobachtung der Vorgänge innerhalb der Phagocyten in vitro und in vivo nicht ersetzen. Sie haben zwar in mancher Hinsicht zu interessanten Ergebnissen geführt, bieten aber viele Fehlerquellen: gelingt es nicht, bakterizide Stoffe für gewisse Bakterien zu extrahieren, so ist damit natürlich nicht ausgeschlossen, daß solche in der lebenden Zelle dennoch wirksam sind und vielleicht erst im gegebenen Fall gebildet werden (vgl. Levaditi & Mutermilch); andererseits ist es nicht ohne wei-

teres sicher, daß die zum Teil durch komplizierte Verfahren gewonnenen Extraktstoffe auch in der lebenden Zelle als solche vorhanden gewesen sind.

Nun habe ich bereits in meinen ersten Arbeiten mit Rimpau, ebenso wie v. Gruber & Futaki, Hectoen, Löhlein vor der unberechtigten Verallgemeinerung gewarnt, daß bei allen Bakterienarten die Phagocytose von einer Auflösung bez. Abtötung gefolgt sei*). Bei den Tuberkelbacillen ist das nach Beobachtungen in vivo wie in vitro offenbar keineswegs der Fall (Dembinski, Broden, Achard & Löper, Bartel & Neumann, Markl, Neporoshny, Löwenstein, v. Baumgarten). Auch bezüglich der Staphylokokken ist die intracelluläre Abtötung zum mindesten nicht sicher erwiesen, sie wird von v. Gruber und v. Baumgarten u. a. bestritten, von Toyusumi behauptet. Bei den genannten Bakterienarten fehlt aber auch jeder experimentelle Anhaltspunkt dafür, daß hier die Immunität mit gesteigerter Phagocytose Hand in Hand geht, und daß ein stark phagocytäres Serum auch eine entsprechende Schutzkraft besitzt. Es ist nun merkwürdig, daß Wright und seine Schüler vorwiegend gerade mit Tuberkelbacillen und Staphylokokken gearbeitet und ihre Theorien auf klinische, durch kein Tierexperiment gestützte Beobachtungen an diesen beiden Bakterienarten begründet haben. In einer Hinsicht eignen sich allerdings diese Bakterien sehr gut zu Phagocytoseversuchen: sie lassen sich, eben weil sie von den Phagocyten nicht aufgelöst werden, zur Indexbestimmung am besten zählen.

Die bakteriziden und (cytolytischen) Leukocytenstoffe.

Es wird jetzt wohl allgemein angenommen, daß die Leukocyten bakterizide und cytolytische Stoffe enthalten, daß diese aber mit den Ambozeptoren und Komplementen des Serums nicht identisch sind. Es geht dies zunächst aus den zahlreichen Untersuchungen von Leukocytenextrakten und Sekreten hervor; es sei auf die Arbeiten von Ascher, Lambotte & Stiennon, sowie auf die neueren Untersuchungen von Hectoen, Much, v. Gruber & Futaki, Schneider, Noguchi, Zinsser, Weil und seinen Mitarbeitern hingewiesen. Auch Pettersson und Kling fanden die von ihnen als „Endolysine" bezeichneten Leukocytenstoffe bakterizid wirksam und vom Alexin völlig verschieden. Sie nehmen jedoch auch für die „Endolysine" eine komplexe Konstitution an, doch konnten Spät, Werbitzki, Zinsser ihre Reaktivierungsversuche nicht bestätigen. Die Unterschiede vom Alexin zeigen sich zunächst darin, daß die Leukocytenstoffe weit thermostabiler sind, indem sie 65° ertragen. Ferner sind sie nicht imstande, einen Ambozeptor zu komplettieren; sie bleiben auch in salzfreien Medien wirksam, schließlich wirken sie oft bakterizid auf Bakterienarten, die wie Strepto- und Pneumokokken vom Serum derselben Tiere gar nicht beeinflußt werden, während bisweilen sich wieder das umgekehrte Verhalten zeigt.

In mancher Hinsicht sind die Untersuchungen an Blutkörperchen noch geeigneter als die an Bakterien, um über den Komplementgehalt

---

*) Daß die Phagocytose auch da, wo sie nicht zur Abtötung der Bakterien führt, durch Entgiftung sehr nützlich wirkt, habe ich schon oben (S. 405) hervorgehoben.

der Leukocyten Aufschluß zu geben. Landsteiner und Lambotte & Stiennon fanden, daß Leukocytenextrakte nicht imstande waren, inaktives hämolytisches Serum zu komplettieren; Gruber und Hoke konnten auch eine Sekretion von hämolytischem Komplement seitens der Leukocyten nicht feststellen.

Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch die neueren Arbeiten aus dem Metschnikoffschen Laboratorium. So waren die von Levaditi & Rosenbaum und Korschun aus den Leukocyten durch Gefrieren, Auftauen und nachfolgende Mazeration erhaltenen keimtötenden Stoffe thermostabil und wirkten auf nicht sensibilisierte Bakterien bzw. Zellen; sie verhielten sich also entgegengesetzt wie Komplemente. Von Interesse ist es nun, daß die von den erstgenannten Autoren aus Mikrophagen gewonnenen Extrakte nur auf Bakterien, dagegen gar nicht auf Blutkörperchen, Trypanosomen, Spirochäten, die aus Makrophagen gewonnenen dagegen umgekehrt nur auf Blutkörperchen und auf Protozoen (einschließlich der Spirochäten) abtötend wirkten, also entsprechend der Tatsache, daß im Tierkörper die Bakterien in der Regel von den Mikro-, die Blutkörperchen, Trypanosomen und Spirochäten von den Makrophagen aufgenommen und verdaut werden. Dies spricht wohl dafür, daß die Extraktstoffe den in viro wirksamen entsprechen. Bei näherer Untersuchung wurden in den Makrophagenextrakten (Extrakte aus Pankreas oder Drüsen) in Bestätigung früherer Befunde von Korschun & Morgenroth Seifen (und Fettsäuren) nachgewiesen; nun haben insbesondere die Seifen in der Tat eine elektive abtötende Wirkung auf Spirochäten, Trypanosomen, Spermatozoen, rote und weiße Blutkörperchen und alle untersuchten Organzellen, während sie in entsprechender Konzentration für Bakterien unschädlich sind. Auf diesen prinzipiellen Gegensatz haben Levaditi & Rosenbaum und unabhängig von ihnen Neufeld & Händel hingewiesen. Letztere Autoren legen dabei besonderes Gewicht darauf, daß die Protozoen und die tierischen Körperzellen durch Seife nicht nur abgetötet, sondern wie ja auch die von den Phagocyten gefressenen Zellen, völlig aufgelöst werden.

Daß innerhalb der lebenden Leukocyten kein hämolytisches Komplement in Wirksamkeit tritt, ergibt sich aus dem Schicksal der Blutkörperchen, die mit hämolytischem Ambozeptor beladen und dann von Phagocyten gefressen wurden (Neufeld). Solche Blutkörperchen werden nach den übereinstimmenden Angaben aller Autoren weder in vitro noch in vivo jemals schnell in Schatten verwandelt (Metschnikoff, Gruber, Ruzicka, Hectoen u. a.), was doch der Fall sein sollte, wenn die Phagocyten auch nur die geringste Menge von wirksamem Komplement enthielten. Wäre die Annahme Metschnikoffs richtig, daß das hämolytische Komplement des Serums ausschließlich aus den bei der Gerinnung zugrunde gegangenen Makrophagen stammt, so müßte einer von mir angestellten Berechnung zufolge jeder lebende Makrophag genügend Komplement enthalten, um 8—10000 sensibilisierte Erythrocyten schnell in Schatten zu verwandeln. In Wirklichkeit geht jedoch die Verarbeitung der gefressenen Blutkörperchen außerordentlich langsam vor sich, es kommt dabei überhaupt nicht zu einer Schattenbildung, sondern zu einer Art Verklumpung und Degeneration mit Bildung hämoglobingefärbter Schollen. Besonders deutlich sind die Unterschiede zwischen extra- und intracellulärer Auflösung bei den kernhaltigen Vogelblutkörperchen zu beobachten (vgl.

insbesondere die Beschreibung Metschnikoffs); im Gegensatz zur Lysis im Serum, wo schnelle Schattenbildung erfolgt, Kern und Membran aber völlig erhalten bleiben, werden die kernhaltigen Zellen im Innern der Leukocyten ganz langsam, aber restlos verdaut.

Bekanntlich zeigen auch andere, insbesondere stark chromatinhaltige Zellen, wie die Spermatozoen, Spirochäten, Trypanosomen, sich den Serumlysinen gegenüber insofern sehr resistent, als sie im freien Serum zwar schnell immobilisiert und abgetötet, jedoch nur zum allergeringsten Teil gelöst werden, während innerhalb von Phagocyten eine völlige Auflösung erfolgt (Metschnikoff u. a.). Es spricht vieles dafür, daß im Gegensatz zu der intracellulären Verdauung die „Auflösung“ von Zellen und Bakterien durch die Wirkung von Ambozeptor und Komplement in der Regel nur zur „Schattenbildung“ führt, worauf Gruber, v. Baumgarten, Neufeld hingewiesen haben.

Auch bei Typhus- und Cholerabacillen treten bei der intracellulären Auflösung nach Lambotte & Stiennon, Pettersson, Neufeld & Hüne teilweise andere Degenerationsformen auf, als bei dem Pfeifferschen Phänomen im freien Serum, obwohl hier die extra- und intracellulären Vorgänge wenigstens im Beginne recht ähnlich verlaufen. Auch bei der intracellulären Lysis werden offenbar zunächst die Bakterienhüllen gelöst, so daß die entstandenen Granula, ebenso wie die durch Komplement gebildeten im Gegensatz zu den Bacillen bzw. Vibrionen durch gallensaure Salze, Alkalien und Seifen momentan aufgelöst werden (Neufeld).

Nach Metschnikoff verläuft ferner, im Gegensatz zur Komplementwirkung, die intracelluläre Auflösung in der Regel bei saurer Reaktion, und zwar, ähnlich wie bei den Amöben, innerhalb „digestiver Vakuolen“. Von dem Vorhandensein der letzteren konnte J. Koch sich nicht überzeugen; dagegen sah der Autor, daß phagocytierte Tusche- und Zinnoberkörnchen von bestimmten Granula, insbesondere der Makrophagen, stark adsorbiert wurden, und glaubt, daß diese Granula, die nach Orth „ein eigenes Leben führen, Stoffe aufnehmen, assimilieren, verarbeiten, ausscheiden“, vielleicht auch gegenüber den phagocytierten Bakterien eine Rolle spielen.

Von großem Interesse sind auch die Untersuchungen von Jochmann & Müller und von Opie über die in den Leukocyten enthaltenen Verdauungsenzyme, da diese möglicherweise mit den Stoffen, die bei der Verarbeitung der gefressenen Bakterien und Zellen in Wirkung treten, in Beziehung zu bringen sind. Opie unterscheidet zwei solcher Enzyme, die Leukoprotease, die vorwiegend aus polynukleären Leukocyten und aus Knochenmark, und die Lymphoprotease, die aus „Makrophagen“, aus Milz und Leber gewonnen wurde; die erstere wirkt bei neutraler oder alkalischer Reaktion, die letztere nur bei saurer. Die verdauende Wirkung der Leukoprotease wird durch Serum gehemmt (wie schon von Jochmann & Müller festgestellt wurde), so daß etwa durch Sekretion oder Zerfall ins Blut gelangende Leukoprotease hier nicht zur Wirkung kommen kann; bei der Lymphoprotease ist das schon durch die alkalische Reaktion des Blutes ausgeschlossen. Opie & Barker haben weiterhin das Blut und die Zellen verschiedener Säugetiere und Vögel auf das Vorkommen von Leukoprotease und des hemmenden Serumstoffes untersucht, bei Vögeln vermißten sie beide Stoffe.

Nach den Versuchen von KANTOROWICZ und JOCHMANN scheinen übrigens bei der intracellulären Verarbeitung der Bakterien zwei voneinander unabhängige Prozesse in Betracht zu kommen, nämlich die Abtötung der Bakterien bzw. nach KANTOROWICZ die Zerstörung eines die lebenden Keime vor der Verdauung schützenden Antiferments und der eigentliche auf einem proteolytischen Ferment beruhende Auflösungsvorgang

Alles in allem sprechen die neueren Untersuchungen eindeutig in dem Sinne, daß die Keimvernichtung durch Phagocyten toto coelo von der durch Ambozeptor-Komplement verschieden ist: nicht nur die dabei wirksamen Immun-, sondern auch die Normalstoffe sind völlig voneinander zu trennen.

Die unmittelbaren Ursachen der Phagocytose.

Was die unmittelbare Ursache der Phagocytose betrifft, so darf vielleicht die Annahme als die wahrscheinlichste bezeichnet werden, daß dieselbe in allen Fällen, ob es sich um Tropin- oder Opsoninwirkung handelt, im wesentlichen die gleiche ist, und daß die Phagocytose stets durch besondere Stoffe bedingt wird, die entweder chemisch als Reizstoffe auf die Phagocyten wirken, oder physikalisch die Oberflächenspannung der sensibilisierten Zelle verändern. Hierbei ist zu betonen, daß die zur Phagocytose führende Reizung der Leukocyten keineswegs mit positiver Chemotaxis identisch ist. Daß die enge Berührung zwischen Bakterien und Phagocyten an sich nicht Phagocytose auslöst, hat schon DENYS für Streptokokken festgestellt. Auch an Typhusbacillen, Ruhrbacillen, Pneumokokken usw. kann man oft beobachten, daß dieselben in den Kontrollröhrchen als dichter Kranz um die Leukocyten herumliegen und ihnen offenbar fest ankleben, ohne gefressen zu werden. Es muß also noch ein weiteres Moment hinzukommen, das wir wohl am ehesten in einer Veränderung der Oberflächenspannung der Leukocytenhüllschicht suchen können, wie das schon HECTOEN vermutete. Diese durch zahlreiche neuere Beobachtungen gestützte Vorstellung entspricht dem heutigen Stande der Immunitätslehre vielleicht besser, als die früher von mir vertretene Annahme der Ausscheidung besonderer „Reizstoffe" unter dem Einfluß der Antikörper.

ROSENOW (zit. nach HECTOEN) und HECTOEN fanden, daß Bakterien, wenn man sie mit bei 45° abgetöteten Leukocyten und Opsonin zusammenbringt, sich rings um die Zellen anlegen; die gleiche Erscheinung sah LEDINGHAM bei Opsoninversuchen mit lebenden Zellen bei niedriger Temperatur. LEVADITI & MUTERMILCH beobachteten, daß Trypanosomen sich nach Zusatz von spezifischem Serum an durch Hitze, Kälte oder mechanische Einflüsse abgetötete Phagocyten (nicht aber z. B. an Leber- oder Nierenzellen) anheften, und zwar fast stets mit dem geißelfreien Ende. SAVTSCHENKO, SAVTSCHENKO & BARIKINE, BARIKINE sahen bei Versuchen mit Erythrocyten ebenfalls den „ersten Akt der Phagocytose" (die „Koagglutination") mit abgetöteten Leukocyten (jedoch nicht in salzfreiem Medium) eintreten, ferner auch bei 0° und ebenso in vivo in der Bauchhöhle bei starker Abkühlung des Tieres, wo es zur eigentlichen Phagocytose nicht kommt. Die Autoren nehmen an, daß das sensibilisierende Serum die Oberflächenspannung des Antigens (der Blutkörperchen) modi-

fiziert und so die Verklebung veranlaßt (vgl. auch L. Michaelis' Untersuchungen über die Ursachen der amöboiden Beweglichkeit). Barikine gibt auch eine besondere Methode zur Messung der Klebrigkeit der Zellen an. Nach Hamburger, Haan & Bubanovic setzen fettlösliche Stoffe, wie Jodoform, Chloroform, Benzol nach Lösung in der Hüllsubstanz der Phagocyten deren Oberflächenspannung herab, daher befördern schwache Konzentrationen dieser Stoffe die Phagocytose von Kohlepartikeln. Nach Walbaum verstärkt Cholesterin sowohl in vitro als auch in vivo (bei Kaninchen) die Phagocytose erheblich, während Graham das Lecithin, Müller die von ihm untersuchten bakteriellen Lipoide völlig unwirksam fand; Müller nimmt daher an, daß Lipoide bei der Phagocytose keine Rolle spielen. Weitere einschlägige Beobachtungen sind in dem Abschnitt Leukostimulantien erwähnt.

Für die eigentliche Aufnahme ist natürlich die Vitalität der Leukocyten unbedingt erforderlich; ob aber die aktiven Bewegungen der Phagocyten und die Pseudopodien dazu unentbehrlich sind, muß wohl dahingestellt bleiben, zumal nach manchen Beobachtern, wie Kämmerer, Bine & Lissner die Phagocytose auch bei niedriger Temperatur noch recht lebhaft sein soll.

Die Vorstellung, daß die Leukocyten durch lösliche, von den Bakterien abgegebene Stoffe erst zur Phagocytose veranlaßt werden. ist schon vor langer Zeit erörtert worden, insbesondere von Buchner (1891). Buchner erklärte die Ausscheidung anlockender Substanzen für die Ursache der nachfolgenden Leuko- und Phagocytose, die notwendige Vorbedingung für diese Ausscheidung löslicher Bakterienbestandteile sah er in der bakteriziden Serumwirkung, wobei er gegenüber Metschnikoff betonte, die Bakterien könnten, trotzdem sie lebend aufgenommen werden, „doch bereits unter dem beginnenden Einfluß schädlicher Wirkungen stehen, die eine teilweise Ausscheidung plasmatischer Inhaltsbestandteile aus ihnen zur Folge haben". In ähnlicher Weise hat Pfeiffer von einer sekundären Aufnahme der durch die lytischen Serumstoffe „angedauten" Bakterien und der anlockenden Wirkung der dabei diffundierenden Stoffe gesprochen. Die oben dargelegte Anschauung sieht dagegen die bakterizide Wirkung des Serums bzw. den ersten Beginn oder die Einleitung einer solchen keineswegs als Vorbedingung für die Phagocytose an, sondern als ein Vorkommnis, das nur zufällig in gewissen Fällen damit verbunden ist, und, wie wohl kaum zu bezweifeln ist, oft das Gegenteil, nämlich eine Abstoßung und Schädigung der Leukocyten durch die gleichzeitig in Lösung gehenden toxischen Leibesbestandteile bewirkt.

Daher findet durchaus keine Parallelität zwischen bakterizider und opsonischer Wirkung der frischen Normal- und Immunsera statt und ebensowenig ist eine Auflösung von Bakterien und Zellen ohne weiteres von einer Phagocytose gefolgt; Beispiele hierfür sind an anderer Stelle angeführt worden. Es sei ferner noch auf einige Beobachtungen an Meningokokken hingewiesen. Bei Meningokokkenstämmen tritt (auf manchen Nährböden) eine so starke Degeneration ein, daß bei Schluß des Phagocytoseversuchs die Mehrzahl aller Kokken nur noch schattenhaft färbbar sind. Wie ich feststellen konnte, hat diese Degeneration nicht den mindesten Einfluß auf die Phagocytose; stark degenerierende Stämme können eine

minimale, gar nicht zerfallende eine starke Spontanphagocytose zeigen.

Alle diese Tatsachen lassen sich mit der von v. BAUMGARTEN vertretenen Annahme einer Identität bakterizider und opsonischer Serumwirkung nicht in Einklang bringen.

Bei dem reinsten Typus der phagocytosebefördernden Serumstoffe, nämlich den Tropinen, beobachten wir bakterizide Wirkungen überhaupt nicht. Diese Stoffe treten im Immunserum in so starker Konzentration auf, daß wir leicht das Hundert- bis Tausendfache der zur Auslösung der Phagocytose erforderlichen Mengen auf die Bakterien (oder die roten Blutkörperchen) einwirken lassen können: dabei läßt sich nicht die mindeste abtötende (oder bei Blutkörperchen hämolytische) Wirkung der Antistoffe erkennen. Diese jederzeit leicht zu demonstrierende Tatsache beweist wohl mit Sicherheit, daß wir die Phagocytose nicht als eine Teilerscheinung der Zellauflösung oder -abtötung ansehen dürfen.

Zwanglos läßt sich nun annehmen, daß auch die Spontanphagocytose von Bakterien und Körperzellen durch die gleichen Ursachen, wie die spezifische Phagocytose bedingt wird. Hiermit stimmt die Beobachtung von WRIGHT & REID gut überein, daß die Spontanphagocytose der Tuberkelbacillen von der Salzkonzentration stark abhängig ist. Gelegentlich wird natürlich die Phagocytose mit dem beginnenden Absterben der Bakterien oder der Zellen verbunden sein (z. B. bei den Blutkörperchen, die im Organismus regelmäßig zugrunde gehen und von den eigenen Leukocyten gefressen werden), oft tritt sie, wie bei Tuberkelbacillen, auch bei lebenden und vollvirulenten Bakterien ein.

Der soeben skizzierten Theorie steht eine Anschauung gegenüber, die ebenfalls bereits seit langer Zeit erörtert worden ist, daß nämlich die Bakterien von den Phagocyten stets gefressen werden, sobald sie sich nicht durch besondere Abwehrstoffe davor schützen. In der Tat hat man wohl nur die Wahl zwischen diesen beiden Erklärungen: entweder ist es gewissermaßen der Normalzustand, daß Bakterien und Leukocyten unbekümmert nebeneinander existieren, bis etwa ein besonderer Anreiz auf die Phagocyten ausgeübt wird, oder umgekehrt, die Phagocyten fressen alle in ihrer Nähe befindlichen Bakterien und Zellen, falls diese sich nicht auf besondere Art dagegen wehren. Diese letztere Annahme hat METSCHNIKOFF als Unterstützung seiner Theorien über die Phagocytose herangezogen, sie ist dann von DEUTSCH & FEISTMANTEL näher ausgeführt und verallgemeinert, und schließlich von BAIL zur Grundlage seiner „Aggressintheorie“ gemacht worden. Die Wirkung der Tropine (und Opsonine) würde dann darin bestehen, daß sie als „Antiaggressine“ die Wirkung der Aggressine aufheben.

Für diese Theorie scheint zunächst der Umstand zu sprechen, daß viele Bakterien in der Tat, wie sich auch in vitro leicht beobachten läßt (DENYS, NEUFELD & RIMPAU, HECTOEN u. a.), Stoffe abgeben, die die Leukocyten schädigen und lähmen. Es erscheint jedoch sehr fraglich, ob diese Stoffe wirklich die Ursache dafür sind, daß sich die Leukocyten (in vivo und in vitro) von gewissen virulenten

Keimen fernhalten, oder ob nicht vielmehr die Abgabe von „Leukotoxinen" durch Bakterien ein sekundäres Vorkommnis ist, das für die Infektion vielleicht keine andere Bedeutung hat, als die oft gleichzeitig nachweisbare Produktion von Hämolysinen oder anderen Cytotoxinen; hierfür spricht schon, daß abgetötete virulente Bakterien der Phagocytose in der Regel denselben Widerstand entgegensetzen wie lebende. Bei näherer Beobachtung zeigt sich ferner, daß die Phagocyten zunächst weder im Tierkörper noch im Reagenzglase die Fähigkeit einbüßen, Bakterien überhaupt zu fressen, sondern daß ihnen von Anfang an die Fähigkeit fehlt, bestimmte Bakterienarten aufzunehmen; führt man gleichzeitig andere, avirulente Bakterien ein, so werden diese, wie schon von Bordet, später von Stiennon, Löhlein und anderen Autoren festgestellt wurde, im Tierkörper lebhaft gefressen, die Leukocyten sind also nicht gelähmt, sondern nur bestimmten Bakterien gegenüber ohnmächtig. Beim Fortwuchern der virulenten Bakterien tritt dann meist eine Degeneration der Leukocyten ein, die jedoch ein sekundäres Ereignis ist. Durchaus das gleiche elektive Verhalten zeigen die Leukocyten, wie schon die Beobachtungen Marchands bei gleichzeitigem Zusatz von Streptokokken und Heubacillen lehren, in vitro. Auch die Mitarbeiter Bails, Weil, Nakayama und Tsuda, haben später die (nicht spezifische) Lähmung der Leukocyten von der spezifischen, primären Phagocytosebehinderung unterschieden. Neuerdings sind aber von mehreren Autoren auch solche Bakterienstoffe („Viruline") beschrieben worden, die in vitro eine spezifische Phagocytosehemmung (d. h. nur für die homologen Bakterien) bewirken, vgl. oben S. 440.

Die Bailsche Theorie trägt einen teleologischen Charakter; verfolgt man ihre Konsequenzen weiter, so muß man den harmlosen Erythrocyten dieselbe Aggressivität zuschreiben, wie den höchstvirulenten Mikroorganismen: auch die Blutkörperchen werden von den Phagocyten (ohne vorherige Sensibilisierung) gar nicht gefressen — nach der oben dargelegten Anschauung einfach deswegen, weil sie, in Kochsalzlösung suspendiert, keinen Reiz ausüben und infolgedessen als innere Körper liegen bleiben, ohne mit den Phagocyten in Wechselwirkung zu treten.

Neuerdings ist noch eine andere Theorie der phagocytären Serumwirkung, nämlich die Umhüllungstheorie vertreten worden.

Wie bekannt, werden anorganische Partikel, wie Kohle, Tusche, Farbkörnchen im Tierkörper, aber auch in vitro von Leukocyten gefressen. Ferner liegen Beobachtungen von Wright & Douglas, Dudgeon & Shattock, W. Rosenthal, Ledingham, Sawtschenko & Barinkine vor, wonach Serum, und zwar vorwiegend aktives Serum, eine deutliche phagocytosebefördernde Wirkung gegenüber Karmin-, Melanin- und Kohlepartikeln ausübt. Rosenthal studierte diese Wirkung eingehend; er führt sie ebenso wie Porges, der bei Reis- und Weizenstärke eine Verstärkung durch aktives Serum feststellte (während inaktives hemmte), auf Umhüllung der Partikel durch adsorbierte Serumstoffe zurück und weist auf die Möglichkeit einer analogen Erklärung der Opsoninwirkung hin. Wenn Porges so weit geht anzunehmen, daß Bakterien, die mit beliebigen Serumstoffen, Amboceptoren, Agglutininen, Komplementen „umhüllt" sind, infolge „positiver Chemotaxis" gefressen werden, so ist das sicher nicht haltbar: denn Agglutinine bewirken keine Phagocytose, und, soweit bekannt

ist, können alle möglichen Bakterien Komplement absorbieren, aber nur gewisse Arten werden dabei opsonisiert. Sonach kann die Umhüllung an sich wohl nicht als ausschlaggebend betrachtet werden, sondern wir müssen den betreffenden Serumstoffen noch irgendeine besondere Wirkung — sei es nun eine chemische oder physikalische — zuschreiben.

Die Verwertung des opsonischen Index in der klinischen Praxis.

Die Versuche zur klinischen Verwertung des opsonischen Index sollen an dieser Stelle nur insoweit besprochen werden, als ihre Ergebnisse von allgemeinem Interesse für die Immunitätslehre sind. Bekanntlich haben Wright und seine Anhänger den verhältnismäßig geringfügigen Schwankungen, welche der Opsoningehalt des menschlichen Serums im Verlauf von Infektionskrankheiten und unter dem Einfluß einer spezifischen Behandlung mit Bakterienstoffen erfährt, eine große Bedeutung für die Diagnose, Prognose und Therapie zugeschrieben. Der Grundgedanke war der, daß der opsonische Index ein unmittelbarer Maßstab für den Immunitätszustand des Körpers wäre: ein niedriger Index für Tuberkelbacillen sollte eine besondere Empfänglichkeit des Betreffenden gegen Tuberkulose anzeigen, eine Steigerung des Index günstige Chancen für die Heilung bedeuten und demnach das Ziel der Tuberkulinbehandlung sein. Die gleichen Grundsätze wurden auf die Staphylokokkenkrankheiten und ihre spezifische Behandlung, und weiterhin schematisch auf nahezu alle Bakterienkrankheiten ausgedehnt, ohne daß der Versuch gemacht wurde, den großen Verschiedenheiten, die doch die Immunitätsvorgänge bei den einzelnen Krankheiten bieten, irgendwie Rechnung zu tragen.

Diesen Grundanschauungen Wrights standen von Anfang an erhebliche Bedenken gegenüber. Zunächst wurde kein Tierversuch bekannt gegeben, der für irgendeine Bakterienart das Grundaxiom, nämlich die Parallelität zwischen der Höhe des Index und dem Grade der bestehenden Immunität, bestätigt hätte. Bekannlich ist ja eine strenge Parallelität dieser Art auch bei anderen Antikörpern, deren Bedeutung für die Immunität bereits besser bekannt und deren quantitative Bestimmung einwandfreier als die der Opsonine war, nicht nachzuweisen, und es ist einleuchtend, daß die Menge der gerade im Blut frei zirkulierenden Antistoffe nicht der Summe der Abwehrkräfte, über die der Organismus verfügt, zu entsprechen braucht.

Nun ist aber der opsonische Index nicht einmal ein zuverlässiger Maßstab für den Gehalt des Serums an spezifischen phagocytären Antistoffen: erstens bedeuten seine Ausschläge zum großen Teil nicht Schwankungen der Immunstoffe, sondern des Komplements (Neufeld), und zweitens erhält man, wenn man nach Inaktivieren des Serums den Gehalt an neugebildeten spezifischen phagocytären Antistoffen in abgestuften Verdünnungen bestimmt, zuweilen völlig andere Resultate, wie von Neisser & Guerrini für die Staphylokokken-, von Böhme für die Tuberkuloseantikörper nachgewiesen wurde; ein Serum kann sogar sehr reichlich phagocytäre Immunstoffe enthalten, ohne daß sein Index überhaupt erhöht ist.

Schließlich ist es, wie schon ausgeführt wurde, für die Tuberkulose- und die Staphylokokkenkrankheiten, auf deren Untersuchung Wright seine Theorie begründet hat, nicht erwiesen, daß hier die phagocytären Serumstoffe überhaupt eine wesentliche Rolle bei der Immunität spielen. Für die Tuberkulose ist nach den Untersuchungen Ungermanns (vgl. unten S. 474) sogar das Gegenteil anzunehmen. Wenn so eklatante Unterschiede, wie sie in der natürlichen Empfänglichkeit des Menschen insbesondere des Erwachsenen einerseits, und des Rindes andererseits, gegenüber dem humanen und dem bovinen Tuberkelbacillus bestehen, in dem Index nicht zum Ausdruck kommen, so kann wohl nicht mehr die Rede davon sein, daß uns der Index einen Anhaltspunkt für die natürliche Resistenz eines Individuums gegen die Infektion mit Tuberkelbacillen gibt. Ebensowenig kann man nach den Befunden Ungermanns an immunisierten Tieren die Behauptung aufrecht erhalten, daß der Index den Grad der erworbenen Immunität auch nur annähernd anzeigt.

Dem entsprechen auch die Erfahrungen der Praxis. Man ist von den übertriebenen Erwartungen, die man für die Praxis an die Opsoninlehre geknüpft hatte, jetzt allgemein zurückgekommen und Wright selbst und seine eifrigsten Anhänger geben bereits zu, daß die spezifische Behandlung der Infektionskrankheiten wenigstens in der Regel auch ohne Indexbestimmungen durchgeführt werden kann. Je eher sich die „Vaccine“-Therapie, wie Wright entgegen dem wissenschaftlichen Sprachgebrauch die Behandlung mit Tuberkulin und mit abgetöteten Bakterien nennt, völlig von dem Ballast der überflüssigen Indexuntersuchung befreit, um so leichter wird sich meiner Ueberzeugung nach das, was daran wertvoll ist, allgemein durchsetzen.

Daß wir den klinischen Opsoninuntersuchungen trotzdem manche interessanten Feststellungen verdanken, soll nicht vergessen werden; als solche möchte ich den Nachweis hervorheben, daß schon sehr kleine Dosen von Tuberkulin die Bildung von Antikörpern auslösen können. Hieraus ergibt sich für den Kliniker die Anregung, solche Dosen zu versuchen, aber keineswegs ein Beweis, daß diese Dosen auch therapeutisch wirksam sind.

Auch als diagnostisches Hilfsmittel hat sich die Indexbestimmung, obwohl sie anscheinend in einzelnen Fällen mit Vorteil angewendet werden kann (vgl. auch die neueren Arbeiten von Schmidt, Böhme), nicht einzubürgern vermocht. Damit hat auch die viel diskutierte Frage, bis zu welchem Grade von Genauigkeit eine zahlenmäßige Indexbestimmung durchführbar ist, erheblich an Interesse verloren; meiner Ansicht nach ist überhaupt auf diese Untersuchungen weit mehr Mühe verwendet worden, als ihrer Bedeutung entspricht.

Ueber die Verwertung des bakteriotropen Reagenzglasversuches zur Titrierung von Sera (speziell von Genickstarresera).

Es liegt nahe, den bakteriotropen Reagenzglasversuch zur Titrierung von Heil- und Schutzseris heranzuziehen. In erster Linie würden dazu natürlich solche Sera in Betracht kommen, deren spezifi-

sche Wirkung wir ausschließlich oder doch ganz überwiegend auf ihren Tropingehalt zurückführen dürfen. Als solche sind die Strepto- und Pneumokokkensera anzusehen; doch ist hier eine Titrierung in vitro wohl deswegen nicht versucht worden, weil der Tierversuch genügend genaue Werte gibt.

Dagegen habe ich für das Meningokokkenserum eine Titrierung durch den Phagocytoseversuch in vitro vorgeschlagen. Hochwertige Meningokokkensera wirken stark bakteriotrop, einige der von mir untersuchten Proben ergeben nach der oben genauer beschriebenen Methodik Werte von 0,0002—0,0005. Daneben enthält das Serum anscheinend zuweilen auch bakterizide Ambozeptoren (Jochmann). Die von Jochmann gefundene bakterizide Wirkung war jedoch relativ schwach, die scheint sich, auch bei sonst hochwertigen Sera, nicht regelmäßig zu finden (Neufeld); außerdem lassen es die Befunde von Mc Kenzie und Martin, Ciuca, die in der Cerebrospinalflüssigkeit im Gegensatz zum Blutserum kein bakterizides Komplement (für Meningokokken und andere Bakterien) fanden, wohl zweifelhaft erscheinen, ob die etwa im Meningitisserum enthaltenen bakteriziden Ambozeptoren an Ort und Stelle vom Organismus ausgenutzt werden können. Dafür, daß dies bei den Tropinen der Fall, sprechen mit Wahrscheinlichkeit Versuche von Davis, der in vitro die Phagocytose von sensibilisierten Meningokokken an Leukocyten, die aus der Cerebrospinalflüssigkeit stammten, beobachten konnte, sowie vor allem die von Flexner & Jobling mitgeteilten mikroskopischen und kulturellen Beobachtungen an intralumbal injizierten Patienten, sowie die entsprechenden Versuche Flexners an Affen. Auch die Beobachtungen Hohns enthalten meines Erachtens keinen Beweis gegen die Annahme, daß das Genickstarreserum auch im Lumbalexsudat des Patienten seine phagocytoseerregende Wirkung ausübt.

Im Laboratorium Flexners ist die von mir vorgeschlagene Wertbemessung des Meningitisserums, deren Brauchbarkeit auch von Kraus & Bächer bestätigt wurde, der Mitteilung Joblings zufolge seit längerer Zeit mit Erfolg eingeführt; wegen aller Einzelheiten sei auf diese Mitteilung Joblings, sowie auf meine letzte Arbeit verwiesen. Dort sind auch die technischen Schwierigkeiten hervorgehoben, die sich gerade beim Arbeiten mit Meningokokken ergeben, und auf die auch Bächer & Hachla, sowie Onaka bei ihren Nachprüfungen gestoßen sind. Manche Punkte, wie die Frage, ob verschiedene Stämme von verschiedenen Antisera ungleichmäßig beeinflußt werden, bedürfen noch weiterer Aufklärung.

Spezielles über Tropine und Opsonine bei einzelnen Bakterienarten.

Im folgenden sind zur Ergänzung des bereits Mitgeteilten einige weitere Angaben über die Tropin- und Opsoninwirkungen gegenüber den einzelnen Bakterienarten zusammengestellt, die vor allem zur Orientierung über die Literatur dienen sollen. Bezüglich der Cytotropine sei auf S. 428 verwiesen.

Die Beobachtungen über

Streptokokken und Pneumokokken.

sind, da ja diese Bakterien gewissermaßen als Pardigma sowohl für die Tropin- wie für die Opsoninwirkung gedient haben, an mehreren Stellen ausführlich erörtert worden. Bezüglich der Tropine der Immunsera sei nochmals

auf die grundlegenden Beobachtungen von Denys, Leclef, Marchand, Mennes und ihre Bestätigung durch Neufeld & Rimpau verwiesen. Die Reagenzglasversuche finden ihre Ergänzung in den klassischen Tierexperimenten von Bordet. Obwohl am längsten bekannt, bieten gerade die Strepto- und noch mehr vielleicht die Pneumokokkentropine gewisse Schwierigkeiten für den Nachweis in vitro (vgl. Ungermann, ferner Bürgers): ihre Wirkung wird nicht selten durch Hemmungsstoffe verdeckt. Aus unbekannten Gründen geben nach Ungermann und Bürgers manche Pneumokokkenimmunsera überhaupt nur im Bindungsversuch Phagocytose, nicht beim Mischen von Serum, Leukocyten und Kokken; dasselbe sieht man gelegentlich bei Streptokokkenseris. Bei unerwartetem Ausfall des Reagenzglasversuches versäume man nie, ihn durch den Tierversuch zu kontrollieren. Schneider fand eine ausgezeichnete Parallelität zwischen Tropingehalt und Schutzwert, ebenso Ungermann in dem speziellen Fall der atypischen Pneumokokkenstämme.

Auch für die Bedeutung der Opsonine für die natürliche Immunität sind die Untersuchungen an Pneumo- und Streptokokken besonders lehrreich gewesen, vgl. oben S. 439. Wie aus den Untersuchungen von Marchand, Hectoen, Rosenow, Rüdiger, Löhlein, Zade, Bürgers, Ungermann u. a. hervorgeht, werden avirulente Pneumo- und Streptokokken entweder bereits spontan aufgenommen oder unterliegen der Opsoninwirkung, während beides bei hochvirulenten Kokken nicht vorkommt (über die entgegenstehende Mitteilung Huggenbergs vgl. S. 441); Bürgers hat daher die Opsonisierbarkeit bei diesen beiden Kokkenarten als Maßstab der Virulenz vorgeschlagen. Besonders eklatant war die Parallelität in einigen von Ungermann untersuchten Fällen.

Wenn auch die Phagocytose gerade bei der Streptokokken- und Pneumokokkenimmunität zweifellos die Hauptrolle spielt, so ist damit eine Beteiligung bakterizider Stoffe wenigstens bei gewissen Tierarten nicht ausgeschlossen; nach Much enthält menschliches Plasma bakterizide Stoffe für die Kokken, was Dold (bei hochvirulenten Pneumokokken) bestätigen konnte: er vermißte aber diese bakteriziden Stoffe völlig bei den hochempfänglichen Kaninchen und Mäusen. Bei den weit weniger empfänglichen Meerschweinchen nimmt Schneider Leukine als wesentliche Ursache der natürlichen Resistenz an.

Während die Bildung der spezifischen Tropine nur nach Injektion virulenter Kokken (Neufeld & Rimpau) erfolgt, werden sie auch von avirulenten gebunden (Levaditi); auch ich fand bei avirulenten Pneumokokkenstämmen starke Beeinflussung durch Tropin.

Vom klinischen Standpunkt aus haben Rüdiger, Tunicliff, Schorer die Schwankungen des Streptokokkenindex bei Erysipelen untersucht, Tunicliff und Banks fanden bei Scharlach regelmäßig (spezifische) Veränderungen des Streptokokkenindex. Ueber Opsoninuntersuchungen bei anderen Streptokokkenkrankheiten finden sich Angaben bei Wright, Bell & Douglas, Weinstein, Potter, & Krumwiede, Meakins, Ross & Johnson, Schiffmann & Kohn. Ueber Indexuntersuchungen bei Pneumonie berichteten Wolf, Mc Donald, Potter & Krumwiede, Coleman, Böllke. Bei Untersuchung des inaktivierten Serums sah Boni erst beim Nahen der Krisis Immunstoffe auftreten; Böttcher sowie Eggers wiesen dieselben bei Rekonvaleszenten nach.

Staphylokokken.

Das Verhalten des Staphylokokkenindex bei Gesunden, Kranken und spezifisch Behandelten haben Wright & Douglas in ihren ersten Arbeiten genau untersucht, weiterhin haben Weinstein, Fyshe, Arinkine & Schneider, Jürgens, Strubell und viele andere einschlägiges Material mitgeteilt. Das Vorkommen hitzebeständiger Immuntropine gegen Staphylokokken stellten Dean, Marshall, Moss u. a. fest; Klarheit über das Verhalten der Normal- und Immunstoffe zueinander ergaben aber erst die mit abgestuften Serumverdünnungen angestellten Versuche von Neisser & Guerrini; hier ergaben sich Werte bis zu 1:10000 und 1:50000. Auch Meakins erhielt bei Kaninchen stark tropinhaltige Sera. Daß jedoch einem solchen hochwertigen Serum eine entsprechende Schutzwirkung zukommt, ist nicht erwiesen. Ueberhaupt ist die Bedeutung der Phagocytose bei Staphylokokken nach Neufeld, v. Gruber u. a. schon deswegen ganz anders zu bewerten, als bei den meisten anderen Bakterienarten, weil die intracelluläre Abtötung nicht nachgewiesen ist; doch schließt neuerdings Weil aus Plattenversuchen, daß eine solche in gewissem Grade doch stattfindet. Meakins fand bei Immunisierung von Kaninchen die Widerstands-

kraft gegen lebende Staphylokokken erhöht, und zwar etwa parallel der phagocytären Kraft des Serums.

Meningokokken.

Ueber Opsoninuntersuchungen bei Meningitiskranken berichten HOUSTON & RANKIN, DAVIS, TAYLOR, HOUSTON, MCGREGOR. Danach findet (bei Benutzung geeigneter, nach HOUSTON & RANKIN am besten 6—8-stündiger Kulturen) im Normalserum nur sehr geringe Phagocytose statt, bei Genickstarrekranken tritt eine frühzeitige Steigerung ein, deren diagnostische Verwertbarkeit die meisten Autoren, insbesondere MCGREGOR, nicht allzu hoch anschlagen. Eher erscheint die Indexbestimmung praktisch brauchbar zur Erkennung der Meningokokkenträger; CATHOIRE fand bei 10 solchen Personen Indices zwischen 1,6 und 8,1 (dagegen keine spezifische Agglutination). Besonders bei Massenuntersuchungen erscheint es durchaus angezeigt, das Verfahren weiter zu prüfen.

Meningokokkentropine haben zuerst JOCHMANN und LÖHLEIN im Pferdeimmunserum gefunden. NEUFELD hat dieselben näher untersucht; er fand hochwertige Sera bis zur Verdünnung von etwa 0,0002 herab spezifisch wirksam und begründet darauf eine Methode zur Titrierung des Meningitisheilserums. Vgl. oben S. 468.

Micrococcus melitensis. Gonococcus.

Thermostabile Antistoffe gegen den Maltafiebererreger stellte LEISHMAN fest, nachdem bereits WRIGHT & DOUGLAS die opsonische Wirkung des Normalserums (bei gänzlichem Fehlen bakterizider Wirkung) beschrieben hatten. Klinische Indexuntersuchungen haben REID, WRIGHT sowie besonders eingehend BASSET-SMITH angestellt; eine praktische Bedeutung haben dieselben bisher wohl nicht gewonnen.

Ebensowenig ist das bei Gonokokken der Fall, wo das Verhalten des Index bei Kranken und besonders bei spezifisch Behandelten eingehend von HAMILTON & COOKE, COLE & MEAKINS, IVONS, FRENCH, WRIGHT, EYRE & STEWART studiert wurde.

Rotlaufbacillen.

Nach Untersuchungen von NEUFELD & KANDIBA (vgl. daselbst die sonstige Literatur) beruht die Wirkung des Rotlaufimmunserums auf Tropinen, die sich noch in sehr starken Verdünnungen nachweisen lassen, während bakterizide Ambozeptoren völlig fehlen. Streng quantitative Versuche sind um so notwendiger, als auch inaktives Normalpferdeserum gewisse Mengen von Tropin enthält. Im Mäuseorganismus zeigt sich die Serumwirkung vor allem in früh einsetzender Mikrophagentätigkeit, während eine (weniger energische) Phagocytose durch mononukleäre Zellen auch bei Kontrolltieren eintritt (MESNIL). Abweichende Beobachtungen hat SPÄT mitgeteilt.

Normalopsonine wiesen GRUBER & FUTAKI, STAAL u. a. nach.

Typhus-, Paratyphus- und Colibacillen.

Ueber Typhus- und Paratyphusbakterien liegen Untersuchungen von LEISHMAN, DEAN, KLIEN, HECTOEN, CLARKE & SIMONDS, SCHOTTMÜLLER & MUCH, KÄMMERER u. a. vor. NEUFELD & HÜNE fanden eine starke bakteriotrope Wirkung des verdünnten Typhusimmunserums, dieselbe ging dem Gehalt der Sera an bakteriziden Ambozeptoren nicht parallel, wie sich besonders an Menschensera zeigen ließ; die Tropine scheinen bei Typhuskranken in der Regel viel später als die Lysine aufzutreten. Komplexe Immunopsonine wiesen LEVADITI & INMAN, DEAN, KÄMMERER, BÖHME in Typhusseris nach. Sera, die mit Paratyphus oder Hogcholerabacillen hergestellt waren, enthalten nach NEUFELD & HÜNE Tropine nicht nur für den eigenen Stamm, sondern auch, wie das der Wirkung der Sera im Tierversuch entspricht, für die übrigen Angehörigen derselben Gruppe (Psittakose, Mäusetyphus, Paratyphus, Hogcholera); dagegen enthalten sie keine bakteriziden Ambozeptoren für diese (homologen) Stämme (TÖPFER & JAFFÉ, NEUFELD & HÜNE). Die Wirkung der Sera greift aber weiterhin, entsprechend den Beobachtungen von BÖHME und BOCK im Tierversuch, auch auf Typhusbacillen über, und zwar üben sie auf diese sowohl eine bakterizide als eine bakteriotrope Wirkung aus. Dagegen enthielten umgekehrt die von NEUFELD

& Hüne untersuchten hochwertigen Typhussera weder bakterizide noch bakteriotrope Antistoffe gegen Paratyphus. Clark & Simonds fanden demgegenüber, daß bei Immunisierung von Kaninchen mit Typhus sowohl wie mit Paratyphus der Index für beide Arten stieg; sie bestimmten denselben mit inaktiviertem Serum, im übrigen meist unter Benutzung der Wrightschen Methode, während nach Klien die Benutzung von Serumverdünnungen (und Feststellung derjenigen Verdünnung, die den Index 0,5 ergibt) weit bessere Ausschläge gibt. Neufeld & Hüne und Clark & Simonds stimmen darin überein, daß auch die heterologen Tropine von der zur Immunisierung benutzten Bakterienart absorbiert werden. Entgegen den Erfahrungen von Neufeld & Hüne und Clark & Simonds glaubte Much den opsonischen Index als differentaldiagnostisches Mittel bei Typhus und Paratyphus benutzen zu können.

Zur klinischen Diagnose des Typhus dürfte die Indexuntersuchung wohl nur gelegentlich, bei Fehlen des Widal in Betracht kommen (Sappington). Nach Mitteilungen von Gaehtgens und Hamilton könnte das Verfahren zur Entdeckung von Bacillenträgern herangezogen werden; während der Index sonst bei Rekonvaleszenten in 3—4 Monaten zur Norm herabsank, behielten unter 16 von Gaehtgens untersuchten chronischen Bacillenträgern 15 monate- und jahrelang hohen Index ($^{3}/_{4}$ der Fälle zeigten gleichzeitig Agglutination). Auch Hamilton fand bei 7 Typhus- bzw. Paratyphusträgern stets abnormen Index (meist auch Widal), am deutlichsten sollen die Ausschläge bei inaktiviertem Serum sein.

Bezüglich der Phagocytose des B. coli sei auf die Versuche von Löhlein verwiesen, wobei sich, bei Benutzung verschiedener Stämme, eine völlige Parallelität der Phagocytose in vivo und in vitro ergab; komplexe Immunopsonine gegen B. coli wies Böhme nach.

Daß Typhus- und Colibacillen durch Normalserum opsonisch beeinflußt werden, ist von Wright & Douglas gefunden und vielfach bestätigt worden.

Ruhr.

Bakteriotropine wurden im Ruhrimmunserum (neben Immunopsoninen) von Dean, Ruffer & Willmore nachgewiesen und von Händel eingehender untersucht; dabei ergab sich, ähnlich wie bei den Agglutininen ein gewisses Uebergreifen zwischen den Typen Shiga, Flexner und Y, was von M. Wassermann & Ritter bestätigt wurde. Bei Untersuchung mit abgestuften Serumverdünnungen erwiesen sich die von mir untersuchten Ruhrimmunsera lange nicht so hochwertig wie die meisten Typhus- oder Cholerasera. Auché nimmt die Parallelität zwischen dem Heilwert und der phagocytären Kraft der von ihm untersuchten Ruhrsera an.

Der Spontanphagocytose unterliegen die Ruhrbacillen nach meinen Erfahrungen kaum; daß das frische Normalserum opsonisch wirkt, fanden schon Wright & Douglas. Genauere Untersuchungen über Ruhropsonine im Normalserum an Erwachsenen und Neugeborenen verdanken wir Bürgers; dabei ergab sich durchaus keine Parallelität zwischen opsonischer und bakterizider Wirkung.

Cholerabacillen und andere Vibrionen.

Die Phagocytose von Cholerabacillen unter dem Einfluß von Immunserum ist von Levaditi, Lambotte, Stiennon, Bächer u. a. sowie unter Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse von Neufeld & Hüne untersucht worden; dabei wurde eine bakteriotrope Wirkung noch bei starken Verdünnungen (bis zu 1:5000) beobachtet und die jahrelange Haltbarkeit der spezifischen Stoffe festgestellt. Auch die El-Tor-Vibrionen reagieren auf die Choleratropine (Neufeld & Händel); gegen andere Vibrionen (V. Elwers, V. Metschnikoff) lassen sich ebenfalls spezifische bakteriotrope Sera gewinnen. Wegen der Neigung vieler Vibrionenstämme zur Spontanphagocytose und zum rapiden intracellulären Zerfall, wodurch auch die Phagocyten geschädigt werden, ist es bei Cholera erheblich schwerer, als z. B. bei Typhus oder Ruhr, gute Phagocytosepräparate zu erhalten, es kommt vor allem auf die benutzte Kultur, ferner darauf an, die Beobachtungszeit nicht zu lange auszudehnen und das Mengenverhältnis zwischen Bakterien und Leukocyten richtig zu wählen.

Die starke opsonische Wirkung des Normalserums gegen Cholera haben Wright & Douglas u. a. festgestellt; Amako fand dieselbe nicht parallel der lytischen Wirkung. Ueber Indexbefunde bei Cholerakranken berichtet Iwaschenzow.

Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen.

Während WRIGHT & DOUGLAS bei Diphtherie- (und Xerose-)bacillen keine opsonische Wirkung des menschlichen Normalserums gefunden hatten, wiesen GRUBER & FUTAKI, TUNICLIFF u. a. eine solche für Diphtherie, HAMILTON für Pseudodiphtheriebacillen nach und untersuchten zugleich die Schwankungen des Index bei Patienten. Die Spontanphagocytose wechselt gerade bei Diphtheriebacillen sehr stark je nach den Stämmen (BÖHME), aber auch je nach dem Nährboden (LINDEMANN). Im Gegensatz zu TUNICLIFF sahen BANDI und MENABUONI nach Heilseruminjektion meist eine Erhöhung des Index. Bereits TUNICLIFF hat ferner phagocytäre Immunstoffe, die auch noch in stark verdünntem Serum wirksam waren, bei mit abgetöteten Diphtheriebacillen vorbehandelten Kaninchen festgestellt. SAUERBECK sowie v. GRUBER und OHKUBO haben diese Stoffe im (antitoxischen!) Diphtherieheilserum näher untersucht; sie fanden ausschließlich Immunopsonine, d. h. nur in Verbindung mit Komplement wirksame Antikörper. Dagegen wies LINDEMANN nach, daß im Serum von Pferden und Kaninchen, die nicht nur mit Toxinen, sondern mit Bacillen immunisiert sind, daneben auch Tropine in nicht unbeträchtlicher Stärke auftreten; über ähnliche Beobachtungen haben auch BÄCHER & LAUB berichtet. LINDEMANN hat vorgeschlagen, bei Heilversuchen mit antiinfektiösen Sera solche mit starkem Gehalt an Tropinen und Immunopsoninen zu wählen. v. GRUBER, OHKUBO und LINDEMANN stellen im Gegensatz zu SAUERBECK mit aller Sicherheit die völlige Abwesenheit von bakteriziden Stoffen im Diphtherieserum fest.

Milzbrand- und Pestbacillen.

Bezüglich der Phagocytose an Milzbrand- und Pestbacillen sei auf das oben S. 456 Gesagte verwiesen, ferner auf die einschlägigen teils in vitro, teils im Tierkörper gemachten Beobachtungen von HECTOEN, SOBERNHEIM, CLER, NEUMANN, PETTERSSON, STAAL (Milzbrand) und von MARKL, KOLLE & HETSCH, WADOUX, HORIUCHI (Pest). Obgleich sowohl opsonische wie bakteriotrope Serumwirkungen beschrieben worden sind, so muß es doch wohl dahingestellt bleiben, inwieweit dieselben als Ursachen der Immunität in Betracht kommen. Nach Beobachtungen von v. GRUBER & FUTAKI und SCHNEIDER sind die „Plakine“ bei der Milzbrandresistenz bestimmter Tierarten von wesentlicher Bedeutung. Dieser Anschauung hat BARREAU kürzlich widersprohcen.

Tuberkelbacillen.

Die opsonische Wirkung des menschlichen Normalserums auf Tuberkelbacillen und die Schwankungen des Index bei Tuberkulösen im Gegensatz zu Gesunden, sowie die Beeinflussung des Opsoningehaltes im Verlaufe einer Tuberkulinkur wurden von WRIGHT & DOUGLAS und nach ihnen von zahlreichen Autoren (URWICK, BULLOCH, MEAKIN & WHEELER, FRASER, FORNET und vielen anderen) hauptsächlich vom praktisch-klinischen Gesichtspunkt aus studiert. In Gemeinschaft mit REID stellte WRIGHT dann fest, daß mindestens ein Teil der nach spezifischer Behandlung neugebildeten Antikörper thermostabil ist (vgl. hierzu FRASER, SIMON, KÄMMERER, BÖHME, LÜTHJE). Der Gehalt menschlicher Sera an Tropinen ist aber anscheinend meist nur gering und die Thermoresistenz eine beschränkte (BÖHME, REITER). Die schweren Bedenken, welche gerade bei Tuberkulose der Verwertung des „Index“ als Maßstab der Immunität im Sinne WRIGHTS entgegenstehen, sind oben dargelegt worden (S. 467). Bakteriotropine im Serum von immunisierten Pferden wies SOBERNHEIM nach; er fand im Gegensatz zu den Beobachtungen von LÖWENSTEIN (spezifisches Kaninchenserum) ein Uebergreifen der Antistoffe auf verschiedene säurefeste Bacillen. RUPPEL & RICKMANN studierten die phagocytären Antistoffe im Serum hochimmunisierter Pferde. Sie fanden starke Erhöhung des Index, auch bei inaktiviertem Serum (Verdünnungen wurden nicht untersucht), ferner sahen sie auch im Meerschweinchenperitoneum unter dem Einfluß des Serums eine spezifische Phagocytose mit überwiegender Beteiligung von Makrophagen eintreten; dabei trat im Gegensatz zu den Kontrollen schneller Zerfall der gefressenen Bacillen ein. Ich selbst habe mich allerdings in Versuchen mit LINDEMANN von dieser Wirkung des Serums nicht überzeugen können, ebensowenig von der von anderer Seite beschriebenen extracellulären spezifischen Lysis der Tuberkelbacillen.

Meakins sah bei vorbehandelten Kaninchen noch in der Serumverdünnung 1:1500 sehr ausgesprochene Tropinwirkung, während Ungermann bei immunisierten Rindern, Ziegen, Kaninchen auch nicht annähernd so hohe Werte erzielte.

Ungermann stellte über die Phagocytose von humanen und bovinen Tuberkelbacillen an einer Reihe von Stämmen eingehende vergleichende Untersuchungen an. Er fand im Gegensatz zu Pochin keinen Unterschied in der Beeinflussung der beiden Typen durch Normalserum von Menschen und Rindern, was unbedingt der Fall sein müßte, wenn die Opsonine bei der normalen Resistenz gegen Tuberkulose die von Wright supponierte Rolle spielen würden. Nach Ungermann sind daher die Normalopsonine auch nicht zur Differenzierung der Typen zu verwenden. Bei Tuberkulösen, die zum Teil mit Tuberkulin behandelt waren, fand Much eine weitgehende Uebereinstimmung des Index für humane und bovine Bacillen (vgl. Blumenfeld & Kappel). Bei immunisierten Tieren vermißte Ungermann einen Zusammenhang zwischen dem Index und der (experimentell geprüften) Immunität der betreffenden Tiere. Auch die Untersuchungen von Strubell & Felber an Rindern sprechen im gleichen Sinne, wie die von Ungermann, nämlich gegen die Bedeutung des Index für die Tuberkuloseempfänglichkeit, obwohl die Autoren selbst diesen Schluß nicht ziehen. Zu den gleichen Ergebnissen und Schlußfolgerungen wie Ungermann kommt dagegen neuerdings Köhlisch. Die angeführten Untersuchungen erscheinen mir für die Beurteilung der Frage, ob die Normal- und Immunopsonine eine unmittelbare Bedeutung für Tuberkuloseimmunität besitzen, weit eindeutiger als alle klinischen Beobachtungen über Indexschwankungen.

Spirochäten, Trypanosomen.

Während Neufeld & v. Prowazek im Hühnerspirochäten-Immunserum keine spezifischen phagocytären Antistoffe nachweisen konnten, fanden Levaditi & Roché im Recurrensimmunserum Tropine (während Normalsera nur thermolabile Stoffe enthielten).

Bezüglich der Trypanosomen liegen Versuche von Levaditi & Mutermilch vor, welche an Naganaparasiten die spezifische Phagocytose unter dem Einfluß eines Immunserums genau verfolgt haben. Zunächst verkleben die Trypanosomen mit den Phagocyten, dann wird der lebende, bewegliche Parasit allmählich gefressen, aber erst, sobald die Kernregion in das Innere des Leukocyten eingetreten ist, hören die lebhaften Bewegungen des Trypanosoma auf.

Literatur.

Achard, Romond, Foix, C. r. soc. biol., T. 66, Nr. 14, **1909**.
Amako, Centralbl. f. Bakt., Bd. 48, 602.
Amberg, Journ. of the Amer. med. Assoc., **1907**, Nr. 4.
Angerer, Ber. a. d. Kgl. Bayer. biolog. Versuchsstation München, Bd. 2, 144, **1909**.
Arinkin & Schneider, Berl. klin. Wochenschr., **1908**, Nr. 5.
Armit, Ball, Browne. Aesculap. Soc., 20. III. 08; ref. Deutsche med. Wochenschr., **1908**, 1038.
Auché, C. r. soc. biol., T. 64, 833.
Axamit & Tsuda, Wien. klin. Wochenschr., **1908**, 1045.
Bächer, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf.-Krankh., Bd. 56, 33, **1907**.
— Centralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 45, 116, **1907**.
— & Laub, ebd., Bd. 61, 254, **1911**.
Bail, Centralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 46, 488.
— & Rubritius, ebd., Bd. 43, 641, **1907**.
Banks, Journ. of pathol. and bacteriol., Vol. 12, 113, **1907**.
Bär, Münch. med. Wochenschr., **1907**, Nr. 34.
Barikine, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, 72, **1911**.
Barr, Bell & Douglas, Lancet, 23. Februar **1907**.
Barrat, Proceed. Roy. Soc., Ser. B, Vol. 76, 524; Vol. 77, 531, **1905**.
— IX. Tagung der Deutsch. pathol. Gesellsch., **1905**, 325; ebd., **1906**, 880.
— Centralbl. f. Bakt., Bd. 43, 838, **1907**.
Barreau, Arch. f. Hyg., Bd. 70, 331, **1909**.

Bartel & Neumann, Centralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 40, 518 u. 723, **1906**.
v. Baumgarten, Jahresb. üb. pathog. Mikroorg. **1905**, 144 Anm.; Biochem. Zeitschr., Bd. 11, 21, **1908**; Münch. med. Wochenschr., **1908**, 1473; 12. Tagung d. Deutsch. pathol. Gesellsch., **1908**.
— Lehrb. d. pathogenen Mikroorg., **1911**.
Beattie, Journ. of pathol. and bact., Vol. 8, 129, **1903**.
Bechhold, Münch. med. Wochenschr., **1908**, Nr. 34.
Becht & Greer, Journ. of inf. dis., Vol. **7**, 127.
Benczur & Kentzler, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 67, 131, **1909**.
Bergey, Journ. of the Amer. med. Assoc., **1906**, Nr. 8; ref. Folia haematol., **1906**, 748.
Besredka, Ann. Pasteur, **1904**.
Bezzola, Centralbl. f. Bakt., Bd. 50, H. 5. (Vergl. dazu die Entgegnung von Neufeld, ebd., Bd. 51, H. 5.)
Bine & Lissner, Münch. med. Wochenschr., **1907**, 2513.
Blumengeld & Kappel, Zeitschr. f. Immunitätsf. (Ref.), **1910**, 152.
Böhme, A., Münch. med. Wochenschr., **1908**, Nr. 28; **1909**, Nr. 22 (Tub. Tropine).
— Arch. f. klin. Med., Bd. 96, 167 u. 195, **1909**.
— Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52, 97 (Paratyphusserum).
Bock, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 24, 238, **1906**.
Bockhoff, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, 1.
Böllke, Deutsche med. Wochenschr., **1907**, 1487.
Bolduan, ref. Bull. Pasteur, **1908**, Nr. 3.
Boni, Zeitschr. f. Immunitätsf. (Ref.), **1910**, 657.
Bordet, Annales Pasteur, **1895**, 462; **1896**, 193; **1897**, 177.
Böttcher, D., Arch. f. klin. Med., Bd. 98, H. 1, **1909**.
Boughton, Journ. of inf. dis., Vol. 7, 111.
Briscoe, Journ. of pathol. and bact., Vol. 12, 66, **1907**; Brit. med. Journ., **1907**, II, 1493.
Buchner, Centralbl. f. Bakt., Bd. 10, 727, **1891**.
Bulloch, Trans. Pathol. Soc. London, Vol. 66, 334, **1905**.
— Lancet, **1905**, Vol. I. 160; Vol. II, 1603.
— Practitioner, Nov. **1905**.
— & Atkin, Proc. Roy. Soc., B, Vol. 75, 379. **1905**.
— & Western, ebd., Vol. 77, 531, **1906**.
Bürgers, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 5, 638; Centralbl. f. Gynäkol., **1910**, Nr. 18.
— & Meisner, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11. 528, **1911**.
Busse, Münch. med. Wochenschr., **1910**, 70.
Campbell, Brit. med. Journ., 13. April **1907**.
Cathoire, C. r. soc. biol, T. 69, Nr. 28.
Caulfield, Journ. of. inf. dis., Vol. 5, 245, **1908**.
Centanni, Zeitschr. f. phys. Chemie, **1908**, 140.
Ciuca, C. r. soc. biol., T. 70, p. 79.
Clarke & Forsyth, ref. Münch. med. Wochenschr., **1908**, 1251.
— & Simmonds, Journ. of inf. dis., **1908**, 1.
Cler, Centralbl. f. Bakt., Bd. 40, 241, **1905**.
Cole & Meakins, J. Hopk. Hosp. Bull., Vol. 18, 123, **1907**.
Coleman, Lancet, 24. März **1906**.
Cowie & Chapin, Journ. of med. Res., Vol. 17, p. 57, 95, 213, **1907**.
Danysz, Annales Pasteur, **1900**, 641.
Davis, Journ. of inf. dis., **1907**, 558.
Dean, Proc. Roy. Soc., Vol. 76, 506, **1906** (Centralbl. f. Bakt. [Ref.], Bd. 37, 348 u. 449).
— ebd., Vol. 79, 399, **1907** (ebd., Bd. 41, 113, **1908**).
— Brit. med. Journ., **1907**. Vol. 2, 1409.
Dembinsky, Annales Pasteur, **1898**, 426.
Demees, La cellule, **1907**.
Denys & Leclef, ebd., T. 11, 177, **1895**.
— & Marchand, Bull. acad. roy. de Belgique **1896** et **1898**.
— & Mennes, ebd., **1897**.
— Vortr. auf dem Intern. med. Kongreß, Moskau **1897**.
— Centralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 24, 685, **1898**. (Kurze Zusammenfassung seiner Resultate.)
— Referat, erstattet auf dem Intern. Hygienekongreß, Brüssel **1903**.
Deutsch & Feistmantel, Die Impfstoffe und Sera. Leipzig **1903**.
Dodds, Brit. med. Journ., **1906**, 23.

Dodds, Brit. med. Journ., 12. Oktober **1907**.
Dold, Arb. aus dem Kais. Gesundh.-Amt, Bd. 36, 419, **1911**.
Dudgeon, Proc. roy. soc., Vol. 80, 531; Vol. 81, 207.
— & Shattok, Roy. Soc. of med., 24. März **1908**, ref. Deutsche med. Wochenschr. **1908**, 1038. Vgl. Shattok.
— Panton & Wilson, Proc. roy. soc., Vol. 82, 406, **1910**.
Eason, Edinb. med. journ., **1906**, 43.
Eggers, Journ. of. inf. dis., Vol. 5, 263, **1908**; ebd. Bd. 6, 662, **1909**; Bd. 10, 48, **1912**.
Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 45, 44, **1907**.
v. Eisler & Sohma, Wien. klin. Wochenschr., **1908**, Nr. 19.
Eyre, Lancet, 22. Februar **1908**.
— & Itervart, ebd., **1909**, II, S. 76.
Fasiani, Zeitschr. f. Immunitätsf. (Ref.), **1909**, 946.
Fassin, C. r. soc. biol., T. 62, 388 u. 467.
Fischöder, Centralbl. f. Bakt., Bd. 51, 320, **1909**.
Fleming, Practitioner, Mai **1908**.
Flexner, Journ. of exper. med., Vol. 9, 105 u. 168, **1907**.
— & Jobling, ebd., Vol. 10, 141 u. 690, **1908**.
Fornet, XIV. internat. Hyg.-Kongreß, Bd. 4, 150, **1907**. Klinische Bedeutung der Opsonine.
— Mikrobiol.-Vers. **1909**.
— & Porter, Naturf. Ges., **1907**. Vortrag: „Ueber den Bau der Opsonine".
— — Centralbl. f. Bakt., Bd. 48, 461; Bd. 51, 138.
Forster, Dikussion zu dem Vortrage Fornets.
Fraser, Glasgow med. Journ., März **1907**.
French, Practitioner, Juli **1906**.
— Brit. med. Journ., 2. Februar **1907**.
Friedberger, Berl. klin. Wochenschr., **1907**, Nr. 41. Haltbarmachung der Komplemente.
— & Seelig, Centralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 46, 421, **1908**.
— & Hartoch, Mikrobiologen-Vers. **1909**; Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, 218.
— & Pinczower, Centralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 45, 352, **1908**.
Friedemann, Therap. Monatshefte, Dezember **1907**.
Fyshe, Montreal med. journ., Oktober **1906**.
Gaethgens, Deutsche med. Wochenschr., **1909**, 1337.
Gengou, Ann. Pasteur, **1901**, 68.
Goodman, Journ. of inf. dis., **1908**, 173.
Graham, Journ. Amer. med. assoc., Vol. 54, 1043; Journ. inf. dis., Vol. 8, 147, **1911**.
Gruber (& Růžička), Wien. klin. Wochenschr., **1903**, 1097; und Vortr. auf d. Brüss. Hyg.-Kongr. **1903**.
v. Gruber, Centralbl. f. Bakt. (Ref.). Bd. 44, Beiheft. (Referat auf der Mikrobiologen-Vers. **1909**.)
Gruber & Futaki, Münch. med. Wochenschr., **1906**, 249. Seroaktivität und Phagocytose.
— — Centralbl. f. Bakt., **1906**, Ref. 38, Beiheft S. 11. Infektion und Resistenz beim Milzbrand.
— — Münch. med. Wochenschr., **1907**, 249. Ueber die Resistenz gegen Milzbrand.
Grünspan, Centralbl. f. Bakt., Bd. 48, 444.
Hamburger & Dehne, Wien. klin. Wochenschr., **1904**.
— & Hekma, Biochem. Zeitschr. **1907**, 88, 102; **1908**, 275.
— & de Haan, ebd., Bd. 24, 304 u. 470.
— — und Bubanowic, Bull. Pasteur, **1911**, 370.
Hamilton, Journ. Amer. med. assoc., Vol. 54, 704. (Index bei Typhusträgern.)
— Journ. of inf. dis., Vol. 4, 313, **1907**; Vol. 5, 570, **1908**.
— & Horton, ebd., Vol. 3. 128, **1906**.
Händel, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 28, 358, **1908**.
Häntjens, Münch. med. Wochenschr., **1907**, 560.
Hartoch & Sirenskij, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, 602.
Hata, Zeitschr f Infektionskrankh., Bd. 61.
Hectoen, Journ. of the Amer. med. Assoc., 11. Mai **1906**. Phagocytosis and opsonins.
— Journ. of inf. dis., Vol. 3. 434 and 721, (Phagocytose von Blutkörperchen.)

Hectoen, Journ. of inf. dis., Vol. 3, 102, **1906**. (Milzbrandopsonin.)
— ebd., Vol. 5, 249, **1908**; Vol. 6, 66 and 78, **1909**; Vol. 7, 330, **1910**.
— Centralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 44, 456. The opsonic index in certain acute infectious diseases.
— & Rüdiger, Journ. of inf. dis., Vol. 2, 128, **1905**.
Heim, Münch. med. Wochenschr., **1904**, 427.
Hohn, Klin. Jahrb., **1909**, 357.
Horinchi, Zeitschr. f. Immunitätsf. (Ref.), Bd. 2, 502.
Houston, Brit. med. Journ., **1907**, Vol. 2, 1414.
— & Rankin, Lancet, **1907**, Vol. 1, 1213.
Huber, Berl. klin. Wocheuschr., **1903**, 358.
Huggard & Morland, Lancet, 3. Juni **1905**.
Huggenberg, Centralbl. f. Bakt., Bd. 55, 53.
Ide, La cellule, **1905**.
Igumenow, Zeitschr. f. Immunitätsf. (Ref.), **1910**, 847.
Inmann, Med. Soc. London, 13. Januar **1908**; Lancet, **1908**, Vol. 1, 220.
Iwaschenzow, Zeitschr. f. Immunitätsf. (Ref.), **1909**, 53.
Jobling, Journ. exp. Med., Vol. 11, 614, **1909**.
Jochmann, Deutsche med. Wochenschr., **1906**, Nr. 20. Ueber Genickstarreserum.
— Zeitschr. f. Infektionskr., Bd. 61, 71. Ueber Leukocytenfermente.
— & Müller, Münch. med. Wochenschr., **1906**, Nr. 26, 31 u. 41.
Jolly, C. r. soc. biol., T. 69, 69 et 295, **1910**.
Jürgens, Berl. med. Wochenschr., **1908**, Nr. 13.
Kämmerer, Münch. med. Wochenschr., **1907**, 1916. Ueber Opsonine.
— ebd., **1908**, 1065 u. 1498. (Opsonine bei Typhus.)
— & Meyer, Fol. häm., Bd. 7, Heft 3.
Kantorowicz, Münch. med. Wochenschr., **1909**, 897.
Kaup, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 49, 29, **1911**.
Keith, Proceed. Roy. Soc. London B, Vol. 77, 537.
Kentzter & Benczur, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 67, 242.
Klien, J. Hopk. Hosp. Bull., **1907**, 245.
Kling, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, S. 1.
Knorr, Journ. of the Amer. med. Assoc., **1907**, Nr. 15.
Koch, Jos., Zeitschr. f. Infektionskrankh., Bd. 68, 82.
Köhlisch, ebd., Bd. 68, 193, **1911**.
Kolle, Hetsch & Otto, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 48, 368.
— & Wassermann, Deutsche med. Wochenschr., **1905**, Nr. 16; Klin. Jahrbuch, Bd. 15, 507.
Korschun, Annales Pasteur, **1908**, 586.
Kraus & Bächer, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, Heft 1.
— & Dörr, Wien. klin. Wochenschr., **1908**, Nr. 1.
Krumbein & v. Schatiloff, Deutsche med. Wochenschr., **1908**, Nr. 23.
Kruschilin, Zeitschr. f. Immunitätsf., I 507.
Lambotte & Stiennon, Centralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 40, 224, 393, 503, **1906**.
Landsteiner, ebd., Bd. 25, 548; Wien. klin. Wochenschr., **1897**, Nr. 19.
— & Reich, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 58, 213, **1907**.
Ledingham, Proc. Roy. Soc., 27. Febr. **1908**; Journ of hyg., Vol. 12, 320, **1912**.
— Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 119. (Phagocytose von Melanin.)
— & Dean, Journ. of hyg., Vol. 12, 152, **1912**.
Leishman, Brit. med. Journ., **1902**, Vol. 1, 73. Note on a method of quantitatively estimamating the phagocytic power etc.
— Trans. path. Soc. London, Vol. 56, 344, **1905**. (Stimulintheorie.)
— Journ. of hyg., **1905**, 380. (Typusantikörper.)
Levaditi, Ann. Pasteur, **1901**, 904. (Cholera-Phagocytose in vitro.)
— Monographie in Kraus-Levaditis Handb., Bd. 2 (mit Inman) und Erg.-Bd. 1.
— & Inmann, C. r. de la Soc. biol., Vol. 1, 683, 725, 817, 869, **1907**.
— & Kössler, ebd., p. 685.
— & Roché, ebd., p. 619.
— & Rosenbaum, Ann. Pasteur, **1908**, 323.
v. Liebermann & v. Fenevessy, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, 43.
Lindemann, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 36, S. 163 (Diphtherie); ebd., Bd. 38, S. 233 (Pneumokokken).

LISTO, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 46, 573.
LÖHLEIN, Annales Pasteur, **1905**, 647; **1906**, 939. Phagocytose in vitro.
— Centralbl. f. Bakt. (Ref.), Bd. 38, Beiheft S. 32. Ueber Phagocytose von Pest- und Milzbrandbacillen.
— Münch. med. Wochenschr., **1907**, 1473. Ueber WRIGHTS „Opsonine".
LÖWENSTEIN, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 55, 429, **1906**. (Phagocytose von TB.)
— Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 388.
LÜHTJE, Therap. Monatshefte, **1909**, H. 1.
MC FARLAND & L'ENGLE, Journ. Amer. med. Assoc., Vol. 49, 1178, **1907**.
MC GREGOR, Journ. of pathol. and bact., Vol. 14, 503, **1911**.
MC KENZIE & MARTIN, ebd., Vol. 12, H. 4, **1908**; Vol. 12, 539, **1909**.
MALLORY, Journ. of exp. med., Vol. 3, 611, **1898**; Vol. 5, 1, **1900**.
MANTEUFEL, Münch. med. Wochenschr., **1906**, 1996.
MANWARING & RUH, Journ. of exp. med., Vol. 9, 473, **1907**.
MARBÉ, C. r. soc. biol., T. 68, 1075; T. 69, 462.
MARCHAND, Arch. de méd. exp., **1898**.
MARKL, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 42, 244, **1903**. (Pestimmunität.)
— Centralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 38, 69, **1905**. (Phagocytose bei Tuberkulose.)
MARSHALL, Journ. of pathol. and bact., **1908**, 378.
MEAKIN & WHEELER, Brit. med. Journ., **1905**, Vol. 2, 1396.
MEAKINS, Journ. of. exp. med., Vol. 11, 100 (Tuberkulose); ebd., S. 875, (Streptokokken), Vol. 12, 67 (Staphylokokken).
MENABUONI, Zeitschr. f. Immunitätsf. (Ref.), **1909**, 52.
MENNES, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 25, 413.
MESNIL, Ann. Pasteur, **1898**, 481.
METALLNIKOFF, Biolog. Centralbl., 15. Juni **1907**.
METSCHNIKOFF, Immunität bei Infektionskrankheiten. Deutsche Ausg., Jena **1902**.
— Lubarsch-Ostertags Ergebnisse, Jahrg. XI, Bd. 1, 645, **1906**.
— Annales Pasteur, **1892**, 289. Immunité des lapins vaccinés contre le hog-choléra.
— ebd., **1899**. Resorption des cellules.
— Lancet, **1906**, Vol. 1, 1553.
MEYER, Berl. klin. Wochenschr., **1908**, 951.
L. MICHAELIS, Fol. ser. II, 237.
MORESCHI, Berl. klin. Wochenschr., **1906**, 1243; **1907**, 1204.
MORITZ, Med. Chronicle, Mai **1907**.
MORO, Ueber das Verhalten der hämolytischen Serumstoffe bei gesunden und kranken Kindern. Wiesbaden **1908**.
MOSS, J. Hopk. Hosp. Bull., **1907**, Nr. 195.
MUCH, Münch. med. Wochenschr., **1908**, 496; **1909**, 2662; Jahrb. d. Hamburger Staats-Kr., Bd. 12, 169.
MUIR & MARTIN, Brit. med. Journ., **1906**, Vol. 2, 1703.
— Proceed. Roy. Soc. B., T. 79, 187, **1907**.
MÜLLER, Arch. f. Hyg., Bd. 64, 62, **1908**.
— Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1, 61.
MUTERMILCH, C. r. soc. biol., T. 67, 654, **1909**.
NATTAN-LARRIER & PAVON, C. r. soc. biol., T. 66, 574, **1909**.
NEISSER & GUERRINI, Arb. a. d. Inst. f. exp. Ther., **1908**, H. 4.
NEPOROSHNY, Centralbl. f. Bakt. (Ref.), Bd. 39, 264.
NEUFELD, Deutsche med. Wochenschr., **1904**. Nr. 52. (Entgegnung auf den Prioritätsanspruch von WRIGHT.)
— Ueber die Ursachen der Phagocytose. Arbeiten a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 27, 414, **1907**.
— Beiträge zur Kenntnis der Phagocytose und der Herkunft des Komplements. Ebd., Bd. 28, 125, **1908**.
— Ueber die Grundlagen der Wrightschen Opsonintheorie. Berl. klin. Wochenschr., **1908**, Nr. 21.
— Wertbestimmung des Meningokokkenserums. Med. Klinik, **1908**, Nr. 30; und Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 34, 266, **1910**
— Zusammenfass. Ref. für den intern. med. Kongr. in Budapest. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 33, 580.
— & BICKEL, Ueber Cytolysine und Cytotropine. Arbeiten a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 27, 310, **1907**.

NEUFELD & HÄNDEL, Ueber die zellösenden Wirkungen usw. Ebd., Bd. 28, H. 3, **1908**. (Phagocytose von Milchkügelchen und Emulsionen.)

— & HÜNE, Untersuchungen über bakterizide Immunität und Phagocytose. Centralbl. f. Bakt. (Ref.), Bd. 28, Beiheft; Arbeiten aus dem Kais. Ges.-Amt., Bd. 25, **1907**.

— & KANDIBA, Beitr. z. Kenntnis d. „antiaggressiven“ Sera, Bd. 40, 1, **1912** (Rotlaufserum).

— & LINDEMANN, Serumfeste Typhusstämme. Mikrobiol. Vereinig., **1912**; Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 54, Beil., S. 229.

— & RIMPAU, Ueber die Antikörper der Streptokokken- und Pneumokokkenimmunserums. Deutsche med. Wochenschr., **1904**, Nr. 40; Zeitschr. f. Hyg., Bd. 51, 283, **1905**.

— & TÖPFER, Ueber hämolytische und hämotrope Sera. Centralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 38, 456, **1905**.

— & UNGERMANN, Technik der Tropinuntersuchung. Handb. von KRAUS-LEVADITI, I. Erg.-Bd.

NEUMANN, Centralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 44, 46, **1907**.

NOGUCHI, Journ. of exp. med., Vol. 9, 455, **1907**.

NOON & FLEMING, Lancet, 25. April **1908**, 1203.

OHKURO, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, 1.

ONAKA, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 66, 348, **1910**.

OPIE, Journ. of exp. med., Vol. 8, 410, **1906**; Vol. 9, 515, **1907**.

— & BARKER, ebd., Vol. 9, Nr. 2, **1907**.

PARK & BIGGS, Journ. of med. res., Vol. 18, 77, **1907**.

— & WILLIAMS, Journ. of exp. med., Vol. 7, 402, **1905**.

PETERSSON, Centralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 39, 402 u. 613, **1905**; Bd. 40, 537, **1906**; Bd. 42, Bd. 45, 160 u. 235, **1907**; Bd. 50, 634; Bd. 54.

— Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, 693.

PFEIFFER, Centralbl. f. Bakt., Ref. Bd. 38, Beiheft S. 39; Ref. Bd. 40, 175.

POCHIN, Lancet, Vol. 2, 713, **1908**.

PORGES, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, 4.

POTTENGER, Journ. amer. med. assoc., Vol. 52, **1909**.

POTTER, Journ. of the Amer. med. assoc., **1907**, Nr. 22.

— & KRUMWIEDE, Journ. of inf. dis., **1907**, 601.

PREISZ, Centralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 44, 209.

PRIBRAM, Wiener klin. Wochenschr., **1910**, 1131.

RADZIEVSKI, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 34 u. 37.

REID, Trans. path. Soc. London, Vol. 57, 463.

REITER, Berl. klin. Wochenschr., **1909**, Nr. 39.

REYN & KJER-PETERSEN, Lancet, 28. März u. 4. April **1908**, 919 u. 1000.

REYNOLDS, Lancet, **1910**, Vol. 1, 569.

RÖMER, Ueber Pneumokokkenserum. Verhandlung. d. opthalm. Gesellsch., Heidelberg **1907**, 28; ebd., **1911**, Diskussion zum Vortrag von SCHNEIDER.

— Exper. u. klin. Grundlagen für die Serumtherapie des Ulcus serpens, Wiesbaden **1909**.

ROSENOW, Journ. of inf. dis., Vol. 5, 683, **1906**; Vol. 6, 285, **1907**.

ROSENTHAL, Med. Klin., **1907**, 424.

— Phagocytose anorganischer Partikel. Vortrag in der mikrobiolog. Vereinigung, **1908** u. **1909**.

ROSS, Brit. med. Journ., 24. November **1907**.

— & JOHNSON, Journ. amer. med. assoc., Vol. 52, Nr. 10.

RÖSSLE, Zieglers Beitr., Bd. 41, Heft 2, **1907**.

ROWLEY, Journ. of exp. med., Vol. 10, 78, **1908**.

RUBIN, Journ. of inf. dis., Vol. 1, 425.

RÜDIGER, Journ. of the Amer. med. assoc., 21. Januar **1905**; Vol. 46, 108, **1906**.

— & DAVIS, Journ. of inf. dis., **1907**, 333.

RUFFER & WILLMORE, Brit. med. Journ., **1908**, Vol. 2, 1176.

RUPPEL & RICKMANN, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, 387.

SAATHOFF, Münch. med. Wochenschr., **1908**, 779.

SACHS, Arch. f. Physiol., **1903**, 494.

— Lubarsch-Ostertags Ergebn., 11. Jahrg., I, 600 f.

SAPPINGTON, Journ. of med. research, Vol. 22, 435, **1910**.

Sauerbeck, Lubarsch-Ostertags Ergebn., 11. Jahrg., I, 690. (Monographie und Opsonintheorie.)
— Fol. serol., Vol. 2, 1. (Die Krisis in der Immunitätslehre.)
— Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3, 731. (Diphtherie- und Streptokokkenopsonin.)
Savtschenko, Ann. Pasteur, **1902**, 106.
— Arch. sc. biol. Petersburg, T. 15, Nr. 2, **1910**.
— & Barikine, ebd., Nr. 5.
Schiffmann & Kohn, Wien klin. Wochenschr., **1909**, Nr. 3.
Schmidt, Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir., Bd. 21, H. 1.
Schneider, Arch. f. Hyg., Bd. 65, 305, **1908**. Präexistenz des Alexins.
— Münch. med. Wochenschr., **1909**, 499. (Leukine.)
— Zeitschr. f. Augenheilk., Bd. 24, H. 3, und Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 48, 271. (Pneumokokkenimmunität.)
Schorer, Journ. of the Amer. med. assoc., Vol. 134, 728, **1907**.
Schottmüller & Much, Münch. med. Wochenschr., **1908**, Nr. 9.
Schütz, Wien. klin. Wochenschr., **1908**, Nr. 12.
Sellards, Journ. of inf. dis., **1908**, 308.
Shaw, Lancet, **1907**, Vol. 2, 1287.
Shattok, ebd., 23. November **1907**.
Shimodaira, Deutsche med. Wochenschr.. **1909**, 525.
Simon, Journ. of the Amer. med. assoc., Vol. 1, 139, **1907**.
— Journ. of exp. med., Vol. 9, 487, **1907**.
— & Lamar, J. Hopk. Hosp. Bull., Vol. 17, 27, **1906**.
— — & Bispham, Journ. of exp. med., Vol. 8, 651, **1906**.
— Melvin & Roine, ebd., Vol. 11, 695.
Sleeswigk, Ann. Pasteur, **1907**, 983. (Opsonin in Froschserum.)
— Centralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 46, 513, **1908**. (Konstitution der Opsonine.)
— Habilitationsschrift, Amsterdam **1908** (holländisch).
Sobernheim, Centralbl. f. Bakt., (Ref.) Bd. 38, Beiheft S. 114; Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 5. 638. (Tuberkulosetropine.)
— Handb. d. allg. Path. v. Krehl u. Marchand, Bd. 1, 505—516, **1908**.
Sohma, Wiener klin. Wochenschr., **1908**, 755.
Spät, Centralbl. f. Bakt., Bd. 59, 178, **1911** (Endolysine); Zeitschr. f. Hyg., Bd. 69, 643, **1911** (Rotlaufserum).
Staal, Centralbl. f. Bakt., Bd. 49, 226.
Stroux, Journ. of exper. med., Vol. 9, 743, **1909**.
Strubell, Münch. med. Wochenschr. **1907**, 2172; Deutsche med. Wochenschr., **1901**, Nr. 18.
— Deutsche med. Wochenschr., **1908**, Nr. 19, 812. (Enthält spezielle Angaben über die im Wrightschen Laboratorium gebräuchliche Technik.)
— & Felber, Centralbl. f. Bakt., Bd. 54, 44. (Tub.-Index mit humanen u. bovinen TB.)
— — Berl. klin. Wochenschr., **1909**, Nr. 32 (Opsonintechnik).
Sweet, Bull. Univ. Pennsylv. (zit. nach Saohs).
Tarrassewitsch, Ann. Pasteur, **1902**, 128.
Thomas, Journ. of the Amer. med. ass., **1907**, Nr. 15.
Tschistovitch, Ann. Pasteur, **1909**, 843.
Töpfer & Jaffe, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52, 393.
Tsuda, Centralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 46, 502, **1908**.
Tunicliff, Journ. of inf. dis., Vol. 4, 304, **1907**. (Scarlatina).
— ebd., Vol. 5, 14, **1908**. (Diphtherie.)
— ebd., Vol. 5, 268, **1908**, Vol. 6, 346, **1909** (Streptokokkenindex).
— ebd., Vol. 7, 698, **1910**. (Index bei Neugeborenen.)
— & Davis, Journ. of inf. dis., Vol. 4, 66, **1908**.
Turton & Appleton, Brit. med. Journ, 13. April **1907**.
— & Parkin, Lancet, 27. Oktober **1906**.
Ungermann, Arb. a. d. Kais. Ges. Amt, Bd. 34, 286. (Tuberkuloseopsonine.)
— ebd., Bd. 36, 341. (Pneumokokkenopsonine.)
— Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 5, 269. (Pneumokokkentropine.)
— & Kandiba, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 40, S. 24, **1912**.

VEITCH, Journ. of path. and bact., Vol. 12, 353, 1908.
WADOUX, Soc. de biol., Vol. 63, 477, 1907.
WALBURN, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, 544.
WASSERMANN, Deutsche med. Wochenschr., 1907, 1936.
— Ueber Meningokokkenserum. Ref. auf dem XIV. intern. Hygienekongreß, Berlin, Bd. 2, 1102, 1907.
— Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37, 173, 1901. (Komplementbindung in vivo.)
WEIL, Centralbl. f. Bakt., Bd. 59, 423, 1911.
WEIL & NAKAYAMA, Berl. klin. Wochenschr., 1906, 70.
— & NUNOKAWA, Centralbl. f. Bakt., Bd. 54, 262, 1910. (Aphagozide Leukocytenwirkung.)
— & TSUDA, Berl. klin. Woch., 1907, Nr. 33.
WEINSTEIN, ebd. 1906, 1007 u. 1274.
WERBITZKI, Arch. f. Hyg., Bd. 70, 270.
WHITE, Dublin journ. of med. sc., September 1907; Practitioner, Mai 1908.
WHITFIELD, ref. Münch. med. Wochenschr., 1907, 1764; Practitioner, Mai 1908.
WILSON, Amer. journ. of phys., Vol. 19, 445, 1907.
WOLF, Wisconsin med. journ., 1908, Nr. 8.
WRIGHT, Studien über Immunisierung. Jena 1910. Gesammelte Arbeiten von WRIGHT und seinen Schülern in deutscher Uebersetzung.
— Technik der Zählung von Bakterien in Emulsionen, Lancet 1901, Vol. 1, 1532; Vol. 2, 715.
— Notes on the treatment of furunculosis, sycosis and acne by the inocul. of a staphyl. vaccine etc., Lancet 1902, Vol. 1, 874.
— A lecture on therap. inocul. of bacterial vaccine. Brit. med. Journ., 1903, Vol. 1, 1069.
— & WINDSOR, On the bactericidal effect etc., Journ. of hyg., 1902, Vol. 2, 385. (Fehlen der bakteriziden Serumwirkung bei Staphyl., Microc. melit., Pest.)
— & DOUGLAS, An exper. investigation on the role of the blood fluids in connection with phagocytosis. Proceed. Roy. Soc. London, Series B, Vol. 72 357, 1903.
— — Further observations etc., ebd., Vol. 73, 128, 1904.
— — On the action exerted upon the staphyloc. pyog. by human blood fluids, and on the elaboration of protective elements . . in response to inoculations of a staphyl. vaccine, ebd., Vol. 74 147, 1904.
— — On the action exerted upon the tubercle bacillus by human blood fluids and on the elaboration of protective elements etc., ebd., Vol. 74, 159, und in Lancet, 1904, Vol. 2, 1138.
— & REID, On spontaneous phagocytosis and on the phag., which is obtained in the heated serum of patients etc., ebd. Vol. 77, 194, 1906.
— — On the possibility of determining the presence or absence of tubercular infection by the examination of a patients blood and tissue fluids, ebd., Vol. 77, 211, 1906.
(N.B. Die vorstehenden sechs Arbeiten von WRIGHT mit DOUGLAS und REID enthalten das gesamte Material für die Begründung seiner Theorie.)

WRIGHT, A lecture on the inoculation treatment of tuberculosis. Clin. Journ., 1904.
— On the general principles of . . . the treatment of tuberc. infect. Medico-chirurg. Trans., Vol. 89, 1905; Lancet 1905, Vol. 2, 1598.
— On the treatment of acne, furunculosis and sycosis etc. Brit. med. Journ., 7. Mai 1904.
— Lancet, 2. und 9. Dezember 1905. (Speziell Tuberkulosebehandlung.)
— ebd., 17. und 24. August 1907. (Zusammenfassende Vorlesung über seine Lehren, mit spezieller Beziehung auf die Verwertung am Krankenbett.)
— Practitioner, Mai 1908. Ueber Vaccinebehandlung und Immunisationstherapie.
— DOUGLAS, FREEMANN, WELLS und FLEMING, Lancet, 2. November 1907. (Ausführliche klinische Mitteilungen, mit Krankengeschichten.)

Wright, A., Med. Record, **1902**, 117. (Eine Beobachtung über Phagocytose von Blutkörperchen.)
— Deutsche med. Wochenschr., **1904**, Nr. 52. (Prioritätsanspruch gegen Neufeld & Rimpau.)
Zade, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, 81. (Opsonine und Virulenz.)
— Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 48, 286. (Opsonine in den Augenflüssigkeiten.)
Zebrowski, Centralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 45, 49. **1907**.
Zinsser, Journ. of med. research, Vol. 22, 397, **1910**

VI.

Die Agglutination.

Von

Prof. Dr. **Richard Paltauf**

in Wien.

I. Einleitung. Geschichtlicher Ueberblick.

Die Kenntnis der verschiedenen Eigenschaften des Blutserums bei der erworbenen Immunität und im Anschlusse auch des normalen Serums gestattet einen tiefen Einblick in den komplexen Bau des Bakterienkörpers und seiner biologischen Leistungen, welcher mit den morphologisch anscheinend so einfachen Verhältnissen der Bakterienzelle der älteren Tradition in außerordentlichem Kontraste zu stehen schien; gleichzeitig erfuhren wir auch von einer außerordentlich mannigfaltigen Tätigkeit und Beeinflußbarkeit des Stoffwechsels im hochentwickelten tierischen Organismus, indem er imstande ist, eine anscheinend ganz undenkbare Feinheit in den Reaktionen gegen Bakterienzellen und bakterielle Substanzen zu offenbaren. Das hohe biologische Interesse paart sich hierbei mit bakteriologischen und medizinischen Fragen von der größten Tragweite, deren Verfolgung durch Ehrlichs Theorie außerordentlich gefördert wurde.

Seit R. Pfeiffer[1] beim Choleravibrio die spezifischen Schutzstoffe kennen gelernt hat, sind die Immunitätsreaktionen immer mehr als die einzigen sicheren Methoden zur Identifizierung respektive Differenzierung einer Anzahl pathogener Mikroben erkannt worden, die namentlich wertvoll sind, wo es zahlreiche nahestehende saprophytische oder nur ausnahmsweise pathogene Formen gibt. Die Pfeiffersche Methode gab denn auch einen höchst wertvollen Behelf für die bakteriologische Diagnostik, sie sicherte die Spezifität des Choleravibrio, und man kann sagen, sie erst bestätigte den Typhusbacillus als den Erreger des Abdominaltyphus. So ausgezeichnete Dienste die Pfeiffersche Methode bei gewissen Bakteriengruppen leisten kann, so findet sie ihre Beschränkung, indem sie selbst bei den Bakteriengruppen, bei welchen sie anwendbar ist, nur bei virulenten Stämmen ausgeführt werden kann; da ihre Ausführung mehr weniger nur als Tierversuch möglich ist, so fand sie wenig Verwendung als klinischer Behelf. Eine wesentliche Bereicherung erfuhren daher die Immunitätsreaktionen durch die von Gruber

& Durham entdeckte Agglutination, welche die bakteriologische Diagnostik auch bei wenig virulenten oder avirulenten Stämmen erlaubt und eine viel weitere, auf zahlreiche Bakteriengruppen sich erstreckende Anwendung gestattet. Als nun Widal einige Monate nach Grubers ersten Publikationen zeigte, daß die Agglutination bei dem so verbreiteten Abdominaltyphus die Stellung der Diagnose während der Krankheit zuläßt, wurde dieselbe so recht die Begründerin einer auch klinischen Serodiagnostik. Gerade die Aussicht, beim Abdominaltyphus, dessen Differentialdiagnose manchmal selbst dem geübtesten Kliniker ein Schnippchen schlug, nur mit einem Tropfen Blut und einer Kultur von Typhusbacillen eine sichere Diagnose stellen zu können, machte die Methode ungemein populär; in den bakteriologischen Laboratorien ist sie geradezu unentbehrlich geworden, denn sie verleiht der Untersuchung in zahlreichen zweifelhaften Fällen einen viel höheren Grad von Sicherheit als irgendein anderes Merkmal. Und wenn man auch später erkannte, daß die Agglutination nicht bei allen Bakterien dasselbe zu leisten imstande ist, so kann dieser Umstand den Wert der Methode nicht beeinträchtigen.

Gruber & Durham hatten in der Beobachtung der Erscheinung, die von ihnen mit „Agglutination" bezeichnet wurde, bereits Vorläufer. So machte Metschnikoff bei seinen Untersuchungen über die Immunität gegen den nach ihm benannten Vibrio die Beobachtung, daß die Vibrionen im homologen Immunserum ein eigentümliches Wachstum zeigen; während im Serum normaler Tiere sowie im Humor aqueus immunisierter die Vibrionen lebhaft beweglich sind, isoliert und getrennt bleiben, allenfalls sich Spirillen, nur selten aber Häufchen bilden, sind dieselben im Serum immunisierter Tiere unbeweglich, erscheinen in größeren oder kleineren Paketen zusammengeballt und zu Boden gesunken, die darüberstehende Flüssigkeit ist klar. Metschnikoff bemerkt hierzu, daß dieselbe Art Wachstum zuerst Charrin & Roger beim Einsäen von Bacillus pyocyaneus in das Serum immunisierter Kaninchen gesehen haben, und fand ferner eine ähnliche Erscheinung bei Pneumokokken, die im Serum gegen dieselben immunisierter Kaninchen in Haufen langer Streptokokken wachsen. Metschnikoff vermutet als Ursache hierfür eine Veränderung der Flüssigkeiten nach eingetretener Leukocytose, da er diese Erscheinung nur im Exsudate aus dem subkutanen Gewebe beobachten konnte. Metschnikoff hält die Erscheinung eines weiteren Studiums wert, da den morphologischen Veränderungen der Bakterien eine große Bedeutung dafür zukommen könne, feinste Veränderungen an den Gewebsflüssigkeiten immunisierter Tiere klarzulegen. Er[2] ließ die weitere Verfolgung jedoch fallen, da er beim Coccus einer Schweineseuche (in Gentilly, nach Smith swine plague) diese Erscheinung nicht fand. Beim Studium der Immunität der Pneumokokken bemerkte Metschnikoffs Schüler Issaeff im Serum immunisierter Tiere auch das veränderte Wachstum der Pneumokokken und vermutete eine Wachstumshemmung unter dem Einflusse von chemischen Substanzen des Immunserums; gemeinsam mit Ivanoff bemerkt er ferner, daß die sonst trübe Bouillonkultur des Vibrio Ivanoff, mit Immunserum versetzt, klar blieb, indem Häufchenbildung der Vibrionen eintrat. Auch Washbourn, ebenso Kruse & Pansini beschrieben außer Haufen- und Kettenbildung, Wachstum in Form eines „flockigen

Präzipitates". Endlich hat Bordet bei Zusatz von Immunserum zu Choleravibrionen sowohl die Aufhebung ihrer Eigenbewegung und die Vereinigung der Vibrionen zu in der Flüssigkeit schwebenden Flöckchen gesehen, als auch die wichtige Tatsache erkannt, daß bereits geringe Serummengen hierzu ausreichen. Es waren dies zweifellos Erscheinungen, die dem von Gruber-Durham als „Agglutination" bezeichneten Phänomen angehören. Die einzelnen Beobachtungen wurden jedoch, wie schon aus der Tatsache hervorgeht, daß sie sich auf den Zeitraum von vier Jahren (1891—1895) verteilen, nicht weiter verfolgt, so daß Gruber & Durham das Verdienst gebührt, die von ihnen selbständig gemachte Beobachtung von der Zusammenballung mancher Bakterien unter der Einwirkung ihrer Immunsera als spezifische Immunitätsreaktion erkannt zu haben.

Bei der Verfolgung des spezifischen bakteriolytischen Vermögens des Pfeifferschen Immunserums gegen Cholera und Typhus beobachteten Gruber & Durham, daß die trübe Coli- oder Cholerabouillonkultur, mit homologem Immunserum versetzt, sich kläre, indem die gleichmäßig verteilten Mikroben zu Flocken zusammenschießen und zu Boden fallen. Unter dem Mikroskop beobachtete man analog, daß bei Zusatz geringer Mengen von Immunserum die Bakterien fast momentan ihre Eigenbewegung verlieren und zu lockeren Ballen zusammentreten. Das Phänomen gewann namentlich Bedeutung durch die von Widal einige Monate später, Juni 1896, erfolgte Mitteilung, daß bereits bei Typhuskranken diese Eigenschaft des Serums vorhanden wäre, daher die Diagnose der Krankheit damit gestellt werden könne. Widal betrachtete deshalb die Erscheinung als ein Zeichen der Infektion und hob in einem Prioritätsstreite (Münchner med. Wochenschrift, 1897, S. 202) mit Gruber und Grünbaum dieses Moment ganz besonders hervor, da bisher die Erscheinung nur als Immunitätsreaktion betrachtet worden wäre. Dies ist insofern richtig, als Gruber auf dem Internistenkongreß (Ann. Inst. Pasteur, 1897) die Teilnehmer aufforderte nach dem Phänomen im Blutserum von Menschen zu fahnden, „welche Typhus oder Cholera überstanden haben". Andrerseits besteht auch kein Zweifel, daß Grünbaum auf Veranlassung Grubers bereits im März desselben Jahres in Wien diesbezügliche Blutuntersuchungen an Kranken angestellt hat. Nur die geringe Anzahl von Fällen — zwei Typhusfälle in der Zeit März bis Juni — machten es ihm unmöglich, mit seinen Ergebnissen in die Oeffentlichkeit zu treten, so daß Widal bei der größeren Frequenz von Typhuserkrankungen in Paris gegenüber Wien ihm mit seiner Veröffentlichung zuvorgekommen ist. Unter Berufung auf Nothnagel & Mannaberg machte Grünbaum nachträglich (1897) die Mitteilung, daß er zu Anfang des Jahres 1896 diesbezügliche Blutuntersuchungen an Kranken der I. medizinischen Klinik in Wien vorgenommen hatte und daß er im März desselben Jahres an zwei Typhusfällen Agglutination der Typhusbacillen in beträchtlicher Verdünnung des Blutserums konstatiert habe. Es rührt somit von Widal die erste Publikation über das Vorkommen des Phänomens bei Typhuskranken her, das Phänomen aber ist das Gruber-Durhamsche; es ist daher gerechtfertigter von Gruber-Widalscher Reaktion zu sprechen (du Mesnil de Rochemond, Münch. med. Woch., 1897, S. 105). R. Pfeiffer & Kolle erhoben insofern Prioritätsansprüche auf die Entdeckung Grubers, als sie in einer am 19. März 1896

erschienenen Arbeit darauf aufmerksam machten, daß sie die Erscheinung ebenfalls beobachtet haben, indem Pfeiffer in einer kurz vorher erschienenen Publikation angeführt habe, daß im Reagenzglase im Brutofen unter Zusatz des Immunserums eine deutliche Entwicklungshemmung der Choleravibrionen zu konstatieren sei, indem „die Vibrionen sich zu großen, wenig beweglichen Konglomeraten zusammenballen“, keine Abtötung eintrete, ferner von der Wirkung des Serums auf die Vibrionen ebenfalls angeführt hatte: „büßten fast momentan ihre Beweglichkeit ein“. Auch verweisen Pfeiffer & Kolle auf die oben zitierte Arbeit von Issaeff & Ivanoff aus dem Institute für Infektionskrankheiten in Berlin. Daß Pfeiffer und seinen Mitarbeitern die Spezifizität der „entwicklungshemmenden“ Eigenschaft des Choleraimmunserums bekannt war, geht aus der am 21. März 1896 erschienenen Mitteilung Pfeiffers & Vagedes' hervor, in der sie sich auf Untersuchungsergebnisse an 70 Cholerakulturen und 20 Vibrionenarten stützten. Andererseits kann aber kein Zweifel sein, daß den genannten Autoren die Selbständigkeit der Erscheinung entgangen ist, und daß es Grubers Verdienst ist, das Phänomen für sich verfolgt und als eine wertvolle, differentialdiagnostisch höchst verwendbare Immunreaktion erkannt zu haben, wenn auch nicht in dem Sinne, wie es sich im Laufe derJahre durch die folgenden Studien herausgestellt hat. Bereits im August 1896 konnten Pfeiffer & Kolle den einwurfsfreien Nachweis erbringen, daß die Agglutinine des Immunserums bei Typhus und Cholera von der bakteriziden Substanz vollkommen zu trennen sind; im Frühjahr des Jahres 1897 entdeckte dann R. Kraus die spezifischen Bakterienpräzipitine, deren Kenntnis für die der Agglutination von ganz wesentlicher Bedeutung war.

Ob der praktischen Bedeutung fand die Agglutination in den folgenden Jahren von klinischer Seite ausgedehnte Bearbeitung (Bensaude führt bereits in seiner 1897 erschienenen These 262 Publikationen auf, und die Aufzählung der Arbeiten über die Reaktion beim Typhus allein würde viele Seiten ausmachen); von bakteriologischer Seite wurde ihre Verwertbarkeit bei den verschiedenen Bakterien verfolgt und wir danken gewiß dieser Methode gerade bei in ihrer Virulenz und Anpassungsfähigkeit für verschiedene Tiere variablen Bakterien gefestigte Kenntnisse. Ferner führte die Frage nach der Natur der Substanzen, dem Zustandekommen des Phänomens überhaupt, zu vielfachen theoretischen Erörterungen. Dadurch und durch die Entdeckung der spezifischen Präzipitine (R. Kraus) wurde die Kenntnis über die Agglutinine außerordentlich gefördert.

Es ist kein Zweifel, daß im allgemeinen betrachtet die Agglutination als eine Eigenschaft mancher einzelligen Lebewesen und auch isolierter Zellen zu betrachten ist, z. B. Blutkörperchen, Spermatozoën, Bakterien, Protozoën (Trypanosomen), wobei gleichzeitig diese Zellen die Fähigkeit besitzen, agglutinierende Substanzen zu erzeugen. Im folgenden soll aber nur die Agglutination bei den Bakterien zur Betrachtung kommen; auch von der Agglutination, welche viele chemische Substanzen (Vesuvin, Safranin, Chrysoïdin usw.), ferner Blutkörperchen und andere Zellen (Spermatozoën) agglutinierende Gifte (Ricin, Abrin, Cyklamin usw.) hervorrufen, soll nur, soweit dieselben auch auf Bakterien einwirken, Notiz genommen werden.

Im Vordergrund der Fragen stand zuerst die Bedeutung des Phänomens für die Immunität, die in anderer Weise gelöst wurde, als nach der Auffassung GRUBERS; noch immer aktuell aber ist die nach seiner Spezifizität und nach seiner Verwertbarkeit für die klinische und bakteriologische Serodiagnostik, nach der Natur der reagierenden Körper und nach dem Mechanismus der Erscheinung.

Für die neuere Forschung bildete die Agglutination das günstigste Objekt, um die Bedeutung der Kolloidchemie für die Reaktionen der Antigene mit den Antikörpern zu verfolgen und weitgehende Analogien zu erweisen, Studien, welche von ZANGGER, LANDSTEINER & v. JAGIČ inauguriert, von NEISSER & FRIEDEMANN, BECHHOLD, PORGES u. a. weiter verfolgt wurden.

II. Das Phänomen der Agglutination.

Das Phänomen der Agglutination besteht in einer Verklumpung der in einer Flüssigkeit (Bouillon oder physiologischer Kochsalzlösung) frei suspendierten Bakterien bei Zusatz von homologen Immunserum und in ihrer Immobilisierung, sofern dieselben beweglich sind. Trägt man ein stark agglutinierendes Serum in die entsprechende Bakterienaufschwemmung oder Bouillonkultur, z. B. von Typhusbacillen ein, so kann es geschehen, daß sofort die Trübung der normalen Aufschwemmung verschwindet und es zur Bildung von Krümeln kommt; hat man Bakterien mit der Nadel oder Oese in die Serumflüssigkeiten eingetragen, so gelingt es in einem solchen Falle kaum, eine gleichmäßige Emulsion zu erzeugen, sondern es treten Klümpchen und Körnchen in einer klaren Flüssigkeit auf, die sich bald zu Boden setzen. Häufig, in schwächeren oder verdünnten Seris, tritt die Reaktion nicht so rasch ein, sondern es vergehen Minuten, $^1/_2$ Stunde, auch Stunden, bis sich die trübe Aufschwemmung unter Bildung von Körnern, zunehmend kleineren und größer werdenden Flocken zu klären beginnt, die Flocken allmählich zu Boden sinken; bei Benutzung von Röhrchen hat man ein Sediment mit darüberstehender klarer Flüssigkeit. Schütteln läßt die Flocken aufwirbeln, doch bildet sich keine gleichmäßige Emulsion, sondern die Flocken oder Körner bleiben, namentlich bei schräger Beleuchtung oder gegen einen dunklen Grund gehalten, deutlich erkennbar. Ist die Reaktion nicht vollkommen, so bildet sich zwar ein Niederschlag, aber die darüberstehende Flüssigkeit bleibt opaleszent. In einem solchen Falle läßt sich jedoch die partielle Reaktion nur im Vergleiche mit der Kontrollaufschwemmung oder am sichersten als Glied einer Reihe von Proben verschiedener Serumaufschwemmungen sicher erkennen, d. h. wenn komplette Agglutination vorausgegangen ist. Stellt man die Reaktion im hängenden Tropfen oder in einem kleinen Schälchen an und betrachtet man den Vorgang bei schwacher Vergrößerung, so sieht man bei rascher Reaktion ein typisches Bild; während der Kontrolltropfen gleichmäßig trüb ist, erscheinen im agglutinierten größere oder kleinere Häufchen in der klaren Flüssigkeit verteilt, wie „Inseln eines Archipels" (WIDAL); bei schwächer wirkenden Seris tritt die Häufchenbildung erst sukzessive ein, die Häufchen sind kleiner, zahlreicher, aber doch getrennt; die Differenz gegen das gleichmäßig trübe Kontrollpräparat ist deutlich. Bei Beobachtung

unter starker Vergrößerung (Immersion) sieht man bei intensiver Reaktion lebhaft bewegliche Typhusbacillen oder Choleravibrionen plötzlich ihre Beweglichkeit einstellen, sie erscheinen wie in einem unsichtbaren Medium erstarrt; einige machen noch zitternde Bewegung, kommen aber auch bald zur Ruhe; gleichzeitig sieht man, daß die zunächst noch isolierten Bakterien an gewissen Stellen zusammengedrängt werden (‚Agglutinationszentren' Widal) und sich Häufchen bilden, zwischen denen auch nicht ein beweglicher Bacillus zu sehen ist. Andere Male, bei weniger rascher Reaktion, tritt die Immobilisierung langsam ein, neben ruhenden Stäbchen erscheinen noch unverändert bewegliche, die beim Berühren anderer oder kleinerer Gruppen zu haften und zu kleben scheinen, wobei sie noch eine Zeitlang eine zappelnde Bewegung beibehalten, diese auch den Häufchen mitteilen, so daß auch sie eine schwankende und zitternde Bewegung zeigen können. Auf Erscheinung des Klebenbleibens hat bekanntlich Gruber das Hauptgewicht gelegt, und daher stammt die Bezeichnung Agglutination — Verklebung; von der mit freiem Auge sichtbaren Erscheinung sind die anderen Beziehungen wie „Verklumpung", „Agglomeration", im Englischen „sedimentation" usw., genommen.

Bereits die ersten Beobachter Charrin & Roger, Metschnikoff haben die Immobilisierung hervorgehoben, Pfeiffer & Kolle sahen darin eine wesentliche Erscheinung, während sie die Verklebung als nicht in höherem Maße vorhanden erachten, als sie auch normal vorkommt; sie nahmen deshalb die Bewegung hemmende Stoffe, Paralysine, an. Die kleinen, lockeren Häufchen lassen die Stäbchen nebeneinander und sich kreuzend, erkennen; die größeren, dichteren Häufchen erscheinen wie granulierte Massen, an deren Rand erst die einzelnen Stäbchen zu differenzieren sind. Bei frischem Serum treten manchmal (Choleravibrionen) auch Kügelchen, mikrokokkenartige Gebilde auf, die Häufchen sind feinst granuliert, dabei heller, fast wie amorphe Massen und werden endlich zu einem feinkörnigen, matten Detritus (Bakteriolyse). Bei unbeweglichen Stäbchen (Pest, Pneumobacillen) verläuft die Häufchenbildung analog. Bei sehr kleinen Mikroben ohne Eigenbewegung, bei Kokken (z. B. Staphylokokken), welche Molekularbewegung zeigen, sistiert zunächst diese Bewegung, worauf die Gruppierung zu Häufchen eintritt; bei Streptokokken z. B. hört die tänzelnde Bewegung kleiner Ketten auf, es bilden sich durch Anlagerung mehrerer Kettchen kleine, manchmal wie verzweigte Gruppen, die dann allmählich zu größeren zusammentreten. Es legen sich also die Streptokokken, wie es beim normalen Wachstum der Fall ist, in Ketten aneinander. Ein ähnliches Bild, vielleicht nur noch ausgesprochener, hat Neufeld von der Agglutination der Pneumokokken beschrieben; unter dem Einflusse eines stark agglutinierenden Serums bilden die Pneumokokken unter starker Quellung Haufen, bei verdünntem aber noch wirksamem Serum treten dieselben in einer trüben Bouillonkultur innerhalb weniger Minuten zu langen verschlungenen Ketten zusammen, zu denen sie sich auch nach dem Aufschütteln wieder vereinigen; sie bilden also dieselben Verbände, welche man beim Wachstum derselben in agglutinierendem Serum kennt. Denselben Vorgang beobachtete Ledoux-Lebard auch an den Bacillen der Pseudotuberkulose des Meerschweinchens: ein beweglicher Bacillus nähert sich einem ruhenden, berührt denselben,

entfernt sich wieder, bis er endlich mit einem Ende am Ende des anderen haften bleibt; es resultiert daraus, daß in den sich bildenden Häufchen die Bacillen nicht Seite an Seite gelagert sind, sondern bei ihrer Vereinigung mehr weniger offene Winkel bilden, so daß die Häufchen locker und wie durchbrochen erscheinen, und die Bacillen sich zu langen Fäden anordnen. Durch weiteres Wachstum bilden sich netzartige Bildungen, deren Maschen aus Ketten und Bacillen gebildet werden (Fadenwachstum). Die deutliche Quellung, welche lebende und auch tote Pneumokokken unter der Wirkung eines Immunserums zeigen, ist keine allgemeine Erscheinung; im großen und ganzen werden die Bakterien morphologisch nicht verändert; bei Oidium albicans, beim Milzbrand I. Vaccin sind Quellungen von Roger, von Gengou beschrieben worden. Die erste Annahme Grubers war hypothetisch, auch Durham hat die Quellung nicht gesehen. Bei den Pneumokokken ist trotz der Quellung keine allgemeine Klebrigkeit der Oberfläche vorhanden, sondern eine solche wäre nur an den Polen, wo sich dieselben zu Verbänden vereinigen, anzunehmen.

Eine dritte Methode (Widal, „à l'état naissant") besteht in der Einsaat von Mikroben in das homologe auf 60° erwärmte Immunserum oder in eine mit demselben versetzte Bouillon; in dieser Weise wurden die oben angeführten ersten Beobachtungen der Agglutination erhoben; indem die Bakterien unbeweglich werden, erfolgt das Wachstum nicht mit der normalen Trübung resp. Häutchenbildung, sondern die Bouillon bleibt klar, die Bakterienvermehrung erfolgt nur am Grunde des Röhrchens, wo sich ein beim Schütteln flockiges Sediment entwickelt; bei schwachem oder stark verdünntem Serum kann es im Verlaufe von 24 Stunden auch zur Trübung kommen, indem mit dem Verbrauche des Agglutinins das Wachstum in agglutinierten Ballen und Flocken aufhört und die Bakterien, namentlich bewegliche, sich in der nun indifferenten Flüssigkeit verteilen. Das Resultat ist bei dieser Probe immer erst nach Stunden, 8—12, auch mehr, deutlich; die Röhrchen sind in kürzeren Intervallen zu kontrollieren, da bei längerer Zwischenzeit das Klarbleiben der Bouillon durch die nach Verbrauch des Agglutinins eintretende Trübung (Verbreitung der Bakterien in der Flüssigkeit) übersehen werden kann. Baudi empfiehlt diese Methode zur diagnostischen Eruierung von Choleravibrionen aus Faeces (Einsaat in Peptonwasser — Choleraserum — Klümpchenbildung).

Die agglutinierten Bacillen, in gewöhnlicher Weise am Deckglase eingetrocknet, lassen sich wie sonst tingieren. Die bei der Agglutination stark gequollenen Pneumokokken verlieren an Färbbarkeit, kaum daß sich Pünktchen im Zentrum noch darstellen lassen; wenn aber die Quellung rückgängig gemacht wird, z. B. durch Erhitzen, so sind die Einzelkokken wieder gut färbbar. Bei manchen Bakterien beobachtet man im ungefärbten Präparate sowohl als auch bei der van Ermengemschen Geißelfärbung die Bildung von Kapseln; Gruber hat auf diese Veränderung ein besonderes Gewicht gelegt, da er darin den Ausdruck einer Quellung der Bakterienmembran sah; nun findet sich eine solche Kapsel(Hof)bildung überhaupt an manchen Bakterien beim Aufenthalte in einem Serum, so daß Gruber in einer späteren Publikation die Bedeutung dieser Erscheinung fallen gelassen hat. Bei der Färbung nach van Ermengem konnte Hinterberger ebenso wenig wie Gruber, Pfeiffer, Joos, G. Rossi u. a.

nach anderen Methoden eine Veränderung an den Geißeln der agglutinierten Typhusbacillen wahrnehmen; es läßt sich keinerlei Abweichung in der Struktur, Anordnung, Länge, Zahl der Geißeln, in der Form der Wellen usw. nachweisen, die der Agglutination zuzuschreiben wäre; denn die von Kühnemann beobachtete tricholytische Wirkung agglutinierender Sera steht nach der Aeußerung des Autors selbst nicht notwendig mit der Agglutination in Zusammenhang, wenn sie auch häufig mit derselben parallel gehen soll; er fand nämlich auch Zerstörung der Geißeln durch verdünntes Normalserum ohne gleichzeitige Agglutination. Nur eine Erscheinung wäre bemerkenswert, nämlich eine helle Zone, die um die Häufchen manchmal zu sehen ist; sie fehlt im Präparate nicht agglutinierter oder durch Vesuvin oder Safranin agglutinierter Bacillen; dieselbe ist nicht an jedem Häufchen sichtbar, was mit ihrer Lage in der Schicht zusammenhängen kann (über ihre Bedeutung vergleiche am Schlusse des Abschnittes IX). Löwit gelang es, mit erwärmter Nochtscher Methylenblaulösung agglutinierte, 3 mal gewaschene Bakterien (besonders Typhusbacillen und Choleravibrionen) zu färben und gleichzeitig in den agglutinierten Haufen, auch an kleinen Gruppen, eine Zwischensubstanz sichtbar zu machen, die bei Nachfärbung mit einem Gemisch von Nochtblau und Eosin noch deutlicher wird. Auch Löwit sah komplette Agglutination ohne irgendwelche nachweisbare morphologische Veränderungen, so daß die allenfalls vorkommenden Kügelchen, Granula, in agglutinierten Häufchen als Erscheinung bakteriolytischer Vorgänge scharf zu trennen sind.

Zur Herstellung von mikroskopischen Dauerpräparaten agglutinierter Bakterien empfiehlt v. Jagić die Burrische Tuschmethode; dieselbe wäre auch für die mikroskopische Beurteilung gegenüber dem hohlen Objektträger (Anfänger!) zu empfehlen und gestattet z. B. bei klinischen Fällen die Agglutinationsverhältnisse immer wieder vor Augen zu führen.

Ein besonderes mikroskopisches Bild bietet unter gewissen Verhältnissen ein Agglutinationspräparat, welches 8—10 Stunden in Bruttemperatur oder 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur gestanden hat. Es finden sich dann Konvolute und Knäuel aus zierlich und guirlandenartig verschlungenen Fäden, bald dichter, bald lockerer, von einem verfilzten Rasen bis zu zarten durchsichtigen Netzen und verschlungenen Fäden. Es sind dies die Konvolute, welche Charrin & Roger als Kettenbildung bei Pyocyaneus, Metschnikoff, Issaeff, Washbourn und Kruse & Pansini als lange streptokokkenartige Verbände bei Pneumococcus, Landsteiner (1897) bei Pneumobacillus, Ledoux-Lebard bei Pseudotuberkulose (1897) im homologen Immunserum gesehen haben und letzterer ausführlich beschrieben hat. Die Erscheinung wurde von Pfaundler[1] (1898) in Anbetracht gewisser Verhältnisse, unter denen er dieselbe beobachtete, als spezifisch betrachtet und als „Fadenreaktion“ bezeichnet; sie kam ihm bei fieberhaften Coli- und Proteusbacillosen von Kindern in der Mischung nur der vom Kranken stammenden Mikroben mit dem Blutserum desselben Kranken zur Ansicht. Pfaundler hielt daher die Erscheinung für den Ausdruck einer im Organismus eingetretenen Individualisierung des Bakterienstammes, unter dem Einfluß der Körperflüssigkeiten. R. Kraus hatte Fadenbildung außer bei Coli auch bei Typhus, Cholera, Pneumobacillus, Rhinosklerom

und nicht nur bei isohomologem Serum, sondern in denselben Beziehungen gefunden, wie sie bei der Agglutination bestehen, welche der Erscheinung auch immer vorausgeht; die genannten Mikroben wachsen, wenn sie agglutiniert sind, zu solchen Fadenkonvoluten heran; bei Färbung erkennt man die Fäden aus in kleinen Intervallen aneinander gereihten Stäbchen zusammengesetzt, die durch eine schwächer tingierte (mit Thionin) Zwischensubstanz verbunden sind. Zum Zustandekommen der Erscheinung ist es notwendig (Eisenberg), daß junge Kulturen in dünner Aufschwemmung, wie Ledoux-Lebard es bereits (1897) beobachtet hatte, mit schwach wirksamen Seris, entweder stark verdünnten hochwertigen oder überhaupt wenig wirksamen Seris, z. B. Pneumobacillus oder Rhinosklerom (Donath) zusammengebracht werden, wie z. B. auch Typhus- und Colikulturen unter dem Einflusse normaler Menschen- und Kaninchensera in der Verdünnung 1:1—1:20 die Erscheinung geben (Kraus & Löw).

Nach Ledoux-Lebard ist die Fadenreaktion nicht nur Wachstumserscheinung, sondern bereits mit einer Art Agglutination verbunden, indem sich die Bacillen mit ihren Enden in Form von Gliedern und Ketten aneinanderlegen. Die Anschauung Tarchettis von einer Entwickelungshemmung entspricht der bereits mitgeteilten Auffassung mancher, namentlich älterer Autoren und ist durch nichts begründet. In neuerer Zeit hat Mandelbaum dieses Phänomen wieder als eine Methode für die Eruierung einer schwachen Agglutination aufgegriffen (vgl. S. 500).

Schließlich sei als eine besondere Art der Agglutination noch die sogenannte „amorphe Agglutination" (Schmidt) angeführt. Dieselbe wurde bei einer subakut und in Heilung ausgegangenen Lungenaffektion durch den Pneumobacillus Friedländer beobachtet. Während das Serum am 7. Krankheitstage keinerlei Einwirkung auf den vom Kranken gezüchteten Stamm zeigte, ergab sich einen Monat später Agglutination und Fadenreaktion, Bakteriolyse und Auftreten von feinsten, zum Teile glänzenden, zum Teile matten Granulis ungleicher Größe, welche zu größeren, hellglänzenden Klümpchen sich zusammenschlossen und in ca. zwei Stunden ausgedehnte mit Ausläufern versehene Rasen von grobkörnigen, stark lichtbrechenden Granulis bildeten, „ein Phänomen, welches durch die Mächtigkeit seiner Erscheinung das Agglutinationsphänomen geradezu in den Hintergrund drängte". Diese Granularasen befanden sich in einem höheren Niveau des Tropfens, sanken nicht so wie die agglutinierten Bacillenhaufen in die Tiefe des Tropfens. Schmidt negiert ihren Zusammenhang mit bakteriolytischen Vorgängen.

Bemerkungen über Niederschläge bei agglutinierten Pneumobacillen finden sich auch in den Protokollen Clairmonts über Agglutinationsversuche mit Kapselbacillen. Löwit beobachtete bei Studien über die agglutinierende und bakterizide Wirkung des Vogelplasmas nach kurzem Aufenthalte im Thermostaten Niederschläge aus kugeligen oder ovalen, schwach glänzenden, plättchenartigen Gebilden, zwischen denen aber auch Mikroben eingeschlossen waren.

III. Methode.

Zur Beobachtung der Agglutination dienen vorzüglich die bereits von Gruber & Durham angegebenen Verfahren, deren Bilder eben geschildert wurden, das mikroskopische und das makroskopische, dazu kommen noch vereinzelte Vorschläge, die mit der Agglutination in Zusammenhang stehende Aenderungen des Wachstums oder dergl. zu ihrem Nachweis zu verwenden.

Die Gewinnung des Blutes erfolgt wie sonst bei Blutuntersuchungen durch Stich in die Fingerbeere oder ins Ohrläppchen, auch mittels Schröpfkopf (v. Jaksch, Ficker[1]), oder durch Einschnitte mittels Lanzette Gruber, Haedke, Bensaude, Hammerschlag, Conradi, Spilka, Stäubli[2]) eventuell mit Platiniridiumspitze (Czaplewski), Blutschnepperlanzette (Frank) oder dem von Schottelius angegebenen Instrumente Hämostix; Claman saugt aus einem kleinen Einschnitt am Vorderarm das Blut mit einer Pravazschen Spritze auf; vielfach wird auch die an sich einfache und schmerzlose Venaepunktur vorgenommen entweder mit der gewöhnlichen Spritzennadel (Lichtheim) oder mit einer knieförmig gebogenen Hohlnadel (von Lichtheim, Breuer, Widal[4], Fraenkel[1] u. a. empfohlen) oder mittels Pravazscher Spritze (Blum), wobei leicht eine etwas größere Menge von Blut (einige Gramm) zu gewinnen ist. Das Blut wird in einer kleinen Eprouvette aufgefangen resp. wenn mit Kapillarröhrchen aufgesogen, in solche entleert, doch kann man es auch in zu Kapillarröhrchen ausgezogenen Glasröhrchen belassen und eventuell dann zentrifugieren. Fischer empfahl eine Pipette mit einem Draht; auch Spitzgläschen (Martinek), verjüngte Röhrchen (Czaplewski, Schottelius) werden verwendet, die mit Gummistopfen verschlossen werden; beim Röhrchen von Schottelius, das 7 cm lang, 1,2 cm Durchmesser hat und sich 3 cm vor der Oeffnung auf 0,6 cm verjüngt, trägt der Gummistopfen eine Insektennadel, die an ihrem Ende einen Schwammzylinder von 0,8 cm Durchmesser hat, welcher zusammen mit Paraffin die Oeffnung dichtet (vgl. Kafka).

Für den klinischen Bedarf hatte man zur Vereinfachung der Technik schon anfangs (Pfuhl) die Verwendung von Bluttröpfchen empfohlen, welche mit der ungefähr zehnfachen Menge Wasser vermischt werden, wobei sich die roten Blutkörperchen lösen. Mit der Oesenmethode werden nun Verdünnungen durch Zusatz von steigenden Mengen Bouillonkultur zur mikroskopischen Diagnose hergestellt.

Diese Methode ist ebensowenig einwurfsfrei als die, eingetrocknetes Blut durch Wiederauflösung zu Agglutinationsproben zu verwenden. Da die Agglutinine im trockenen Blute erhalten bleiben, wurde die Verwendung getrockneten Blutes zunächst von Widal & Sicard[1] empfohlen, von Stern[1], Fr. Pick, Richardson, Johnston[1] & Taggart, Elsberg, Guerard, Vivaldi angewendet und zur Popularisierung des Verfahrens in Montreal und New York eingeführt. Wretowsky empfiehlt die Aufnahme der Blutstropfen in Watte oder sterilem Fließpapier, nachträgliches Auflösen durch destilliertes Wasser als „neue Methode", wobei er allerdings die Rotfärbung der Lösung als Nachteil empfindet. Ganz abgesehen davon, daß eine halbwegs genaue Bestimmung der Konzentration schwer möglich ist (Thomas), hat diese Methode zweifellos noch den Nachteil, daß es sehr leicht zur Pseudoagglutination kommt (Blutkörperchenschatten). Trumpp hat nachgewiesen, daß Gummi- und Leimlösungen direkt agglutinierend wirken, daher können bei dieser Methode Stoffe aus dem Papier Pseudoagglutination veranlassen.

Ohne Zweifel empfiehlt sich am besten die Aufnahme des Blutes in Kapillarröhrchen, das ausgeschiedene Serum ist leicht abzusaugen, ober man kann durch Entfernung des Koagulums mit der heißen Nadel das Serum wenn auch etwas blutkörperchenhaltig, gewinnen und mit demselben die quantitativ bestimmten Verdünnungen anstellen.

Das angeführte Bedenken bezüglich agglutinierender Stoffe im Papier kommt nicht in Betracht bei der Verwendung hochwertiger Typhus- oder Choleraimmunsera zur Diagnostik der betreffenden Bakterien, welche auf Papier angetrocknet als „Typhus- und Cholerareagenzpapier" (E. Jakobsthal) im Handel erhältlich sind; bei dem Umstande, daß hier ausgewähltes Papier verwendet wird und bei der

Hochwertigkeit dieser Sera, die starke Verdünnungen erlaubt, haben selbst allfällige agglutinierende Stoffe keine Bedeutung; selbst bei einer getrockneten Serumverdünnung wird ferner beim Auflösen in ClNa-Lösung nur ganz wenig Papier verwendet.

Es wird auch empfohlen, von der Gewinnung des Serums ganz abzusehen, die Blutstropfen sofort in einer Verdünnungsflüssigkeit aufzufangen oder in eine abgemessene Menge dieser zu geben, so daß eine 10-proz. Blutlösung resultiert; als eine gleichzeitig desinfizierende derartige Verdünnungsflüssigkeit wird eine Formalin-Kochsalzlösung (0,5:0,6:100) empfohlen. Der gefundene Titer muß dann verdoppelt werden, da Blut und Serum im Agglutiningehalt sich wie 1:2 verhalten (Babucke). Die Verdünnungen werden durch die entsprechenden Mengen der Bakteriensuspension z. B. 1 Tr. 10-proz. Blutlösung + 4 Tr. Bacillenaufschwemmung = 1:50 resp. 1:100. Loele, Gossner haben darauf basierte Methoden für den praktischen Arzt empfohlen, welche mit minimalen Blutmengen (1—2 Tropfen) und den noch zu besprechenden abgetöteten (formalinisierten) Bakteriensuspensionen arbeiten.

Als Testobjekt werden gewöhnlich 24-stündige Agar- oder Bouillonkulturen verwendet; im allgemeinen (Kolle[1], [2], Scheffer, Stern[2], Fischer[4]) wird ersteren, die in physiologischer ClNa-Lösung aufgeschwemmt werden, gegenüber den seinerzeit von Gruber & Durham, Widal[5], Breuer, Mesnil de Rochmond, Pfuhl, Laubenheimer[1], Rostoski[2], später Eberle, Venema, Blasius & Kathe u. a. verwendeten Bouillonkulturen der Vorzug gegeben; es kann in Bouillonkulturen bereits zur Häufchenbildung kommen, andererseits zeigt sich, daß die Agarbakterien häufig besser agglutinabel sind (Weil). Neumann hält es für gleichgültig, ob Bouillonkulturen oder Agarkulturaufschwemmungen verwendet werden; das gilt bei solchen Kulturen, die in der Bouillon gleichmäßig wachsen, resp. trüben, wo aber Häufchenbildung, körnige Aggregate, Sedimente sich entwickeln, verbietet sich die Bouillonkultur von selbst. Fast allgemein werden die Kulturen eines Stammes verwendet; die von Blasius & Kathe empfohlene Mischung aus verschiedenen Typhus-Bouillonkulturen hat eher Nachteile (vgl. Küster) und scheint von den Autoren selbst verlassen worden zu sein.

Auf die Agglutinabilität des verwendeten Stammes muß zweifellos Rücksicht genommen werden; Müller[1] hat bei Prüfung verschiedener Typhusstämme in 197 Proben 88mal verschiedene Werte gegenüber demselben Serum gefunden, indem der eine Stamm höher, ein anderer weniger hoch agglutinierte. Analoge Befunde hatten Gross, Falta & Noeggerath. Es empfiehlt sich gerade nicht, sehr leicht agglutinable Stämme als Testobjekt zu wählen, immerhin aber leicht agglutinable, die jedoch keine Spontanagglutination zeigen; besondere Vorsicht verlangen Bakterien, die an sich Klumpen bilden, sich schlecht verteilen lassen oder solche, die außerordentlich leicht durch jedes Serum agglutiniert werden (Pseudoagglutination); durch Aufstellung von Kontrollen, nicht nur einer Bouillon- resp. Kulturaufschwemmung, sondern namentlich mit Normalserum kann man sich vor derartigen Irrtümern bewahren (vgl. Porcile).

Nachdem Widal & Sicard[6], Bordet[1] die Agglutinabilität abgetöteter Kulturen erkannt hatten, wurde von Durham, Wright & Semple, Neisser usw. ihre Anwendung empfohlen, dieselbe hat mehr-

fach Eingang gefunden. Koch empfiehlt Aufschwemmung der Agarkulturen in Kochsalzphenollösung, namentlich für Rotz (Kleine); hierbei ist der Niederschlag häutchenartig; die Methode ist auch für Typhusbacillen nach eigener Erfahrung zu empfehlen. Außer Karbolsäure (1:100), Chloroform (Durham), Thymol (van der Velde[1], Rolly) hat sich namentlich Formol eingebürgert (Neisser, Pröscher, Rostoski[2], Lion, Dreyer[2], Küster u. a.). Typhusbouillonkultur wird mit 1 Proz. der 40-proz. Formalinlösung versetzt, geschüttelt, durch 2 Tage bei 37° C belassen, vom Sediment abgegossen, eventuell auch durch feinstes Papierfilter filtriert. Nach kürzerer oder längerer Zeit sedimentieren allerdings die Bacillen in diesen Flüssigkeiten; nach Dreyer halten sich die Suspensionen kalt und dunkel aufbewahrt, $^1/_2$—1 Jahr. Ein ähnliches, haltbares hierher gehöriges Präparat bildet das noch zu besprechende „Diagnostikon" von Ficker[2].

Namentlich außerhalb eingerichteter und dauernd beschäftigter Laboratorien oder in nicht ganz vertrauten Händen hat die Verwendung abgetöteter Bakterienaufschwemmungen zweifellos Vorteile; man vermeidet auch die Verzögerung durch das Anlegen einer frischen Kultur, man hat ferner ein auf Wochen gleichgeartetes Testobjekt, nicht zum mindesten wird auch jede Infektionsgefahr ferngehalten. (Wiederholt wurden bei Personen, die sich mit der Vornahme der Agglutination von Typhusbacillen beschäftigten, Infektionen beobachtet, für welche keine andere Quelle zu eruieren war [in typhusfreien Orten, bei ausschließlichem Laboratoriumsdienste u. dgl.]. Zu bemerken wäre dabei, daß diese Laboratoriumstyphen auffallend gutartig verliefen.)

Endlich ist noch auf die gleichmäßige Aufschwemmung und ihre Dichte Rücksicht zu nehmen.

Die mikroskopische Methode: Da die Agglutinationsprobe immer streng quantitativ vorgenommen werden muß, so gilt dies selbstverständlich auch für die mikroskopische Vornahme derselben. Man mengt eine bestimmte Anzahl von Tropfen der Bouillonkultur mit Tropfen des unverdünnten oder verdünnten Serums. Gruber[2] empfahl für Typhusagglutination eine Verdünnung von 1:32, Widal 1:10 und als einfachstes Verfahren zur Serumverdünnung die Eintragung von einem Tropfen Serum in 9 Tropfen 24-stündiger Bouillonkultur, von der man sich durch Untersuchung des Kontrollpräparates überzeugt hatte, daß keine Haufenbildung vorhanden ist. Die Tröpfchenmethode wurde nach Widal mit Kapillarpipetten, häufig auch mit Oesen ausgeführt, wobei es aber immerhin schwierig ist, immer gleichgroße Tropfen zu gewinnen; Kapillarröhrchen erleichtern dies. Für die Benützung kleiner Serumquantitäten wurden eigens konstruierte Pipetten (Lewy) nach dem Prinzipe der Mischpipette des Zeiss-Thomaschen Blutkörperchenzählapparates oder Modifikationen desselben (Pfaundler[2]) oder der Melangeur Potain (Epiphanow) empfohlen. Manche treffen ferner noch andere, in ihren Untersuchungen sich immer gleichbleibende Anordnungen. So benutzte Köhler Pipetten für eine bestimmte Tropfenzahl der Bouillonkultur; mehrere Röhrchen mit derselben gefüllt, erhielten eine steigende Anzahl von Serumtropfen. Fischer, Koelzer (Petruschky) geben immer 0,1 ccm Serum in 2,5 ccm respektive 5,0 ccm Bouillonaufschwemmung einer 12—24-stündigen Agarkultur; die Untersuchung der Tropfen erfolgt immer im hohlen Objektträger. Ficker[1] empfiehlt eigens konstruierte hohle Objektträger, bei denen in der Mitte des Ausschliffes ein rundes, ca. 8 mm im Durchmesser haltendes

Klötzchen etwas niederer als der Rand angebracht ist, wodurch eine Spannung des Tropfens in gleichmäßiger Schicht zwischen den Glasflächen möglich wird.

Außer der Vornahme einer exakten Verdünnung ist ganz wesentlich die Beurteilung der Reaktion. Man dürfte dermalen wohl ganz und mit Recht von der Untersuchung mit der Immersionslinse abgekommen sein, um gar in der Bildung fleinster Häufchen von 3—4 Bacillen die Grenzwerte zu suchen, wie es nach der sonst guten Anordnung von Stern der Fall war. Es genügt vollständig, die Betrachtung mit einer schwachen Vergrößerung vorzunehmen, bei der die Bildung größerer und kleinerer Häufchen im klaren Tropfen ,jenes Widalsche Bild von „Inseln in einem Archipel", auch von „Schneeflocken", deutlich ist; eine stärkere Vergrößerung kann allenfalls zur Beobachtung eventueller Beweglichkeit bei beweglichen Bakterien herangezogen werden.

Die makroskopische Methode. Gleich nach Grubers Publikation veröffentlichten R. Pfeiffer & Kolle die von ihnen geübte Methode, die von Kolle viel geprüft ist und allgemein empfohlen wird; sie dient zur Vornahme der makroskopischen Prüfung. Vom Serum werden mit physiologischer Kochsalzlösung Verdünnungen hergestellt, z. B. 1:10, 1:25, 1:50, 1:100 usw.; von diesen Verdünnungen wird je 1 ccm in ein Reagenzröhrchen gefüllt, so daß man dann eine Skala sinkender Serummengen immer in derselben Menge von Flüssigkeit hat, also 0,1—0,025 bis 0,05—0,001 und damit auch die Verdünnung angegeben erscheint. In jedes Röhrchen wird eine Normalöse = 0,002 g frische Kultur amRande der Flüssigkeit vorsichtig verrieben. Die Beobachtung erfolgt hier ausschließlich makroskopisch oder mit der Lupe in dünner Schicht bei Schräghaltung des Röhrchens. Kolle[1,2] rühmt als Vorzug gegenüber der mikroskopischen Methode, daß echte Agglutination auf diese Weise in kurzer Zeit ($^1/_2$ Stunde nach dem Mengen) mit bloßem Auge verfolgbar ist und der Vorgang ein progressiver ist, indem die sich bildenden Häufchen zunehmend sich vergrößern, zu Boden sinken und nun Klärung der Flüssigkeit auftritt. Dabei wächst die Größe der Haufen mit der Konzentration des Serums, so daß auch die Art der gebildeten Häufchen eine Skala bildet. Als Grenzwert nimmt Kolle diejenige Dosis Serum, welche genügt, um in 1 ccm 0,8 ClNa-Lösung 1 Oese 18-stündiger Choleraagarkultur innerhalb einer Stunde bei 37° C zur makroskopischen Häufchenbildung zu bringen. Es ist auf die klare Beschaffenheit der Kochsalzlösung zu sehen — nach Wolff gibt eine 1,0—1,5 Proz. höhere Agglutinationswerte. Ebenso einwurfsfrei ist die Methode, gleiche Teile einer Kochsalzserumverdünnung mit einer Kochsalzkulturaufschwemmung zusammenzubringen (Joos, Eisenberg & Volk[1]), wobei die Serumverdünnung der Reaktion gegen die der hergestellten aufs Doppelte verdünnt ist. Serum 1:100 + Aufschwemmung gibt eine Serumverdünnung von 1:200.

Kirstein empfiehlt zur genaueren und leichteren Auswertung des Grenzwertes konisch verjüngte Röhrchen, weil in der dünnen Flüssigkeitsschichte des ausgezogenen Teiles die feinwolkige Sedimentierung und die feinsten Häufchen leichter hervortreten, Ficker Röhrchen, die in eine kurze Spitze ausgehen, nach Art der Zentrifugenröhrchen.

Eine andere auch mehr makroskopische als mikroskopische und sehr exakte Methode ist die, welche vom Frankfurter Institute

(Neisser) ausgegangen ist und von Pröscher publiziert wurde. Das Blut wird mit einer U-förmigen Kapillare aufgesogen, eventuell werden mehrere benützt; durch einen Tropfen Siegellack oder dergleichen verschlossen. Im Laboratorium werden dieselben zentrifugiert, und in jedem Kapillarschenkel an der Grenze von Blutkuchen und Serum die Röhrchen abgebrochen, wobei infolge der Kapillarität kein Serum ausfließt. Das erhaltene Serum der einzelnen Röhrchen wird direkt in die Meßpipette durch Kapillarwirkung aufgezogen.

Zur Herstellung der Verdünnung wird 1 ccm physiologische Kochsalzlösung in ein Röhrchen gegeben, dazu die genau abgelesene Menge Serums und noch so viel Kochsalzlösung zugesetzt, bis die Serumverdünnung 1 : 10 beträgt, z. B. bei 0,32 ccm Serum müssen zur Mischung desselben + 2,88 ccm phys. Kochsalzlösung hinzugefügt werden, dann resultiert die Serumverdünnung 0,32 : 3,2 = 1 : 10, von welcher eine geometrische Reihe weiterer Verdünnungen folgendermaßen hergestellt wird. In eine Reihe kleiner Reagenzröhrchen wird je $^1/_2$ ccm physiologischer Kochsalzlösung gegeben, das erste bleibt frei, nun wird in die beiden ersten je $^1/_2$ ccm der Serumverdünnung 1 : 10, dann nach gutem Mischen vom zweiten Röhrchen in das dritte, vom dritten in das vierte usw. je $^1/_2$ ccm übertragen. Zu diesen Serumverdünnungen wird nun $^1/_2$ ccm einer mit Formalin abgetöteten Typhusbouillonkultur zugesetzt, wodurch die Serumverdünnung der Gemenge verdoppelt wird, aber alle Röhrchen gleiche Mengen Flüssigkeit und gleiche Mengen Typhusbacillen mit sinkendem Serumgehalt in bestimmten Proportionen ($^1/_{20}$, $^1/_{40}$ usw.) enthalten. Nach Neisser werden die Röhrchen in Blockschälchen ausgegossen, kommen auf 1—2 Stunden in den Thermostaten und werden bei etwa 50-facher Vergrößerung untersucht. Benützt man enge Eprouvetten, in welchen der Kubikzentimeter Flüssigkeit bereits eine deutliche Säule bildet, so kann man die Röhrchen makroskopisch wie bei der Methode Pfeiffer-Kolle betrachten.

Da zur Beobachtung der Flockenbildung namentlich der kleinsten Aggregate gutes, schräg einfallendes Licht nötig ist, so wird gewöhnlich empfohlen, die Röhrchen nach oben gegen das von der Zimmerdecke reflektierte Tageslicht zu betrachten. Jäger empfahl bereits künstliche Beleuchtung durch ein isoliertes Strahlenbündel, welches durch einen Spalt von einer verdeckten Lichtquelle (Glühlicht) aus leicht zu erhalten ist, er nannte den kleinen Apparat „Agglutinoskop". Kuhn & Woithe[2] haben auch einen Apparat konstruiert, bei welchem Licht durch einen Spiegel in die Suspension-Serummischung so reflektiert wird, daß die Lichtstrahlen nicht in das Auge des Beobachters gelangen; in einer leicht geknickten, innen geschwärzten, horizontalen Messingröhre wird das Röhrchen von unten durch einen schmalen Längsspalt mit Hilfe eines Spiegel beleuchtet. Besteht Agglutination, erscheint die Bakteriensuspension dunkler als die Kontrolle, weil sich in der Flüssigkeit weniger Licht reflektierende Teilchen finden. Dieselben Autoren haben auch ein Sedimentoskop konstruiert, welches die Tatsache benutzt, daß agglutinierte Bakterien in Häutchen, sedimentierte in Knöpfen sich am Boden der Eprouvette absetzen. Der Apparat besteht aus einem Eprouvettengestell mit den Eprouvetten entsprechenden Bohrungen am Boden, einem unter dem Gestell angebrachten Spiegel, in welchem die Sedimente sichtbar sind; eine Blechschutzkappe bewirkt, daß nur von der dem Beschauer abgewendeten Seite Licht zu den Gläschen gelangen kann. Das Agglutinoskop wird von Kuhn, Gildemeister & Woithe als ohne Vorbehalt vorteilhaft bezeichnet, während die sedimentoskopische Methode nur für gewisse Bakterienarten, aber da mit großem Vorteil verwendbar ist.

Wright empfahl zur Herstellung der makroskopischen Reaktion eine Kapillarmethode.

Auf einen Objektträger bringt man eine Anzahl Tropfen der Kochsalzlösung, gibt dann als ersten noch einen Tropfen Serum, einen zweiten Tropfen gibt man in den ersten Kochsalztropfen, mengt und überträgt nun weiter immer einen Tropfen, so daß man steigende Verdünnungen erhält; zu jedem Tropfen des Serum-ClNa-Gemisches wird ein Tropfen der Bakterienemulsion zugesetzt, und nun werden diese Tropfen der Reihe nach in einer Wrightschen Kapillare aufgezogen, immer durch eine Luftblase getrennt, das offene Ende wird schließlich zugeschmolzen. Man hat dann bei 7 Tropfen ClNa und 1 Tropfen Serum die Verdünnungen $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$, $^1/_{16}$, $^1/_{32}$, $^1/_{64}$, $^1/_{128}$ und den 7. ClNa-Tropfen + Kultur als Kontrolle, sämtliche übereinander zur Beobachtung. Beyer konstruierte zum Aufsaugen der Tropfen eine Drosselpipette; er bezeichnete die Methode als handlich und gut verwendbar, ebenso Pollaci[1].

Es hing wohl mit den kleinen Mengen Serum und mit einer gewissen Einfachheit der Methode zusammen, daß bei der Mehrzahl der Kliniker die mikroskopische Untersuchung im Gebrauche war und es noch ist; Widal[4], C. Fränkel[1], E. Fränkel, Welch, Lewy & Giesler, Stern[1] und zahlreiche andere Autoren, auch Gruber, empfahlen sie. Die Anhänger der makroskopischen Betrachtung waren lange Zeit in der Minderheit (Mensil de Rochmond), sie dürften jetzt aber wohl die Mehrheit ausmachen und lassen die mikroskopische Untersuchung nur zu orientierenden Zwecken zu, bei der Prüfung von Kolonien, wo nur wenig Kulturmaterial zur Verfügung steht, eventuell auch bei geringen Serummengen. Es wurde verschiedentlich über die Vorteile und Nachteile der beiden Methoden diskutiert, die relative Einfachheit und der geringere Zeitbedarf bei der einen, die Exaktheit und möglichste Eliminierung von Fehlerquellen der anderen Methode, hervorgehoben.

Ausgeschlossen, denn von Nachteil, ist die Verwendung der Immersionslinse bei der mikroskopischen Methode; nur zu leicht kommen nicht nur in Bouillonkulturen, sondern auch bei Agarkulturen in den Serummengen Veränderungen gegenüber dem Kontrollpräparate vor, die fälschlich mit Agglutination in Beziehung gebracht werden. Es ist auch nicht berechtigt wie v. Oordt, Scheffer, Bruns & Kayser, Korte & Steinberg es wollen, für die Erkennung verwandtschaftlicher Beziehungen unter den Bakterien die mikroskopische Methode zu empfehlen; gerade zu differentialdiagnostischen Untersuchungen ist nur die makroskopische Methode zu verwenden (Kolle). Andererseits läßt sich nicht leugnen, daß Uebung und Erfahrung auch eine Rolle spielen. Es muß daher zugegeben werden, daß auch die mikroskopische Methode, korrekt und mit den nötigen Kautelen vorgenommen, auch verläßlich arbeiten kann, namentlich für diagnostische Zwecke und bei geringen Blutmengen; so gibt es denn auch Autoren (Neumann), die es für gleichgültig halten, ob man sich zur Gruber-Widalschen Diagnose der mikro- oder makroskopischen Methode bedient, nur träte sie bei ersterer rascher ein (z. B. Pless). Als „Tröpfchenmethode" ist dieselbe auch jetzt noch in Instituten, Untersuchungsanstalten, z. B. in Halle (Venema, Blasius & Kathe, Bierotte), Göttingen (Fromme), Freiburg i. B. (Küster) im Gebrauche. Exakte Auswertungen, sog. Titrierungen sind wohl nur mit der makroskopischen Methode ausführbar. Auch Referent hat sich überzeugt, daß für viele diagnostische (Typhus-)Untersuchungen bei zweifellos positiver Reaktion die mikroskopische Methode sehr gut verwendbar ist (vgl. Kreissl).

Unbedingt ist das makroskopische Verfahren vorzuziehen und einzig geeignet, ein sicheres Urteil abzugeben, in allen den Fällen, in welchen die zu agglutinierenden Bakterien de norma die Neigung haben, sich zu aggregieren, wie Tuberkelbacillen, Diphtheriebacillen, Streptokokken usw.; hier hat man auch zu mechanischen Mitteln gegriffen, um zu möglichst gleichmäßigen Suspensionen zu gelangen: Lubowski, Zerreiben im Achatmörser für Diphtheriebacillen, Koch, Trocknen und Pulverisieren bei Tuberkelbacillen; auch gewisse Kunstgriffe bei den Kulturen werden angewendet, um gleichmäßige Suspensionen, „homogene“ Kulturen, zu erzielen, z. B. Schüttelkulturen oder Suspensionen in Glyzerinwasser (Lubowski).

Für die Beurteilung der Agglutination hat Koelzer (Typhusagglutination) 4 Typen aufgestellt: vollkommen negative Reaktion, zahlreiche Häufchenbildung, aber noch erhaltene Lokomotion, Agglutination und aufgehobene Lokomotion, Agglutination und Paralyse; das Zählen der Häufchen in gewissen Zeitabständen (Deutsch), das Messen ihrer Größe (Verney) u. dgl., haben wenig Bedeutung.

Da die Reaktion zeitlich abläuft, wobei der Temperatur eine Bedeutung zukommt, die Phasen der Immobilisierung und Häufchenbildung nicht immer gleichmäßig und von derselben Intensität eintreten, mit zunehmender Verdünnung des Serums im allgemeinen immer langsamer werden, so war es notwendig, statt der mehr allgemeinen Ausdrücke: starke Reaktion „sofort“ oder nach 10 Minuten usw. oder „schwache“ Reaktion im Verlaufe einer halben Stunde usw., einen festen Maßstab soweit als möglich aufzustellen. Hierfür hat sich die von Stern (ähnlich Welch) angegebene Anordnung eingebürgert: 2-stündige Einwirkung des Serums auf die Bouillonaufschwemmung von höchstens 12 Stunden alten Agarkulturen, Einstellen der Gemische in den Thermostaten (37°), nach 2 Stunden Untersuchung der Tropfen; ist Agglutination eingetreten, so wird dieses Agglutinationsvermögen des Serums mit A_2 bezeichnet und die Serumverdünnung, bei welcher noch Bildung deutlicher, wenn auch kleiner Häufchen auftritt (z. B. 1:50), und jene, bei der dies nicht mehr der Fall ist (z. B. 1:100), mit $100 > A_2 > 50$ ausgedrückt. Der Vorschlag Zupniks[1], den Agglutinationswert 1:40 als Einheit zu bezeichnen, z. B. 3,10 Einheiten = 1:120 resp. 1:400, hat keinen Anklang gefunden. Da die Reaktion manchmal recht träge abläuft und nach 2 Stunden noch nicht beendet ist, so wird eine Beobachtung von 3 Stunden (Lion) empfohlen. Um sicher zu gehen, empfiehlt sich auch aus diesem Grunde, die Proben noch einige Zeit bei Zimmertemperatur stehen zu lassen. Verglichen können natürlich nur Resultate innerhalb derselben Beobachtungszeit werden. Bei Untersuchungen hat sich vielfach eingebürgert, die Resultate nach 2 Stunden Bruttemperatur zu nehmen und nach 24 Stunden Zimmertemperatur noch zu kontrollieren; Eisenberg dehnte die Beobachtungszeit bis zu 72 Stunden aus, wobei allerdings Vorsicht vor Trübungen durch Wachstum oder die Verwendung abgetöteter Kulturen angezeigt ist.

Bei Verwendung abgetöteter Kulturen tritt die Reaktion etwas später ($^1/_4$—$^1/_2$ Stunde) ein als bei lebenden Kulturen; bei Verwendung des Fickerschen Diagnostikums erst im Verlauf von 4—6—8 Stunden.

Eine nie zu versäumende wichtige Kautele ist die Kontrolle der Kulturaufschwemmung, ob dieselbe nicht überhaupt Häufchen bildet, und ob die Bakterien, soweit es sich um bewegliche handelt, auch gut beweglich sind. Nach Savage[1] wäre beim Typhusbacillus die Bildung von Häufchen in flüssigen Kulturen die Eigenschaft gewisser Rassen, die sich auch im Peptonwasser zeigt, wenn er auch zugibt, daß Pseudoagglutination unter gewissen Verhältnissen gefördert wird (z. B. feinste Partikel, Blutkörperchenschatten etc.). Es genügt ferner auch die Bakterienaufschwemmung für sich als Kontrolle nicht, sondern diese sollte unter Einwirkung von Normalserum hergestellt werden. Das gilt namentlich für Bakterien, welche bereits von Normalserum, und zwar schwankend beeinflußt werden (Streptokokken, Meningokokken, dem Flexnerschen Bacillus u. a.).

Bereits von Dineur[1] wurde rascheres Ausflocken bei leichtem Schütteln des Bakterien-Serumgemenges beobachtet, ebenso von Scheller[1], Kafka. Gaehtgens hat in mehrfachen Arbeiten Zentrifugieren der Röhrchen durch 10 Min. zur Beschleunigung der Agglutination empfohlen; agglutinierte Bakterien und Kontrolle zeigen Bodensatz, der aber bei letzterer nach 3—4maligem Aufschütteln eine homogene Trübung gibt, während bei agglutinierten Bakterien der Bodensatz entweder um ein dichteres Zentrum punktförmige Häufchen oder eine zusammenhängende Masse zeigt, die sich beim Schütteln in Flocken auflöst; wird von Müller empfohlen.

Wie bereits erwähnt, kommt der Temperatur für den rascheren Ablauf der Reaktion eine Bedeutung zu; nach Weil (von Sadler, Loghem bestätigt) stellt für Typhusbacillen wie für Choleravibrionen, auch für Staphylokokken eine Temperatur um 50—55° C das Optimum dar, so daß auch das Einstellen der Röhrchen in Brutkästen mit 50° C geübt wird (Kolle, Hetsch, Porges[1]). Nach Eberle bestehen keine nennenswerten Unterschiede zwischen den verschiedenen Temperaturen. Kafka fand bei vergleichenden Untersuchungen, daß nur kräftige Sera bei 56° C rascher agglutinieren, daß sich aber auch bei solchen Seris der oberste Titer niedriger stellt als bei Brut- oder Zimmertemperatur; Kafka bezeichnet die Temperatur von 37° C als das Optimum für den Verlauf der Reaktion, sowohl nach der quantitativen als qualitativen Richtung, ebenso Venema. Beide betonen als einen Nachteil der Temperatur von 55° C, daß die Beweglichkeit der Bakterien schwindet, wodurch die Reaktion weniger empfindlich werde. Nur unter gewissen Verhältnissen scheint die Temperatur von 55° C Vorzüge zu bringen (Jobling), so empfehlen Kutscher, auch Fischer dieselbe für die Agglutination der Meningokokken, da manche, allerdings seltene Stämme erst bei dieser Temperatur agglutinieren, auch weil Agglutination derselben durch Normalserum bei niederer Temperatur stattfinden kann, was bei höherer Temperatur nicht der Fall ist. Porges empfiehlt eine Temperatur von 55° C für die Agglutination der agglutinabel gemachten Friedländerschen Bacillen.

Für das Fickersche Diagnostikum gilt die höhere Temperatur als geradezu schädlich (Kafka).

Asakawas Angabe von einer beträchtlichen Verkürzung des Verfahrens (1/4 Stunde) durch Gefrieren in einer Eis-Salzmischung, wonach beim Auftauen die Agglutination bereits eintrete, wurde von Kirstein nicht bestätigt. Es gibt aber einzelne Beobachtungen, welche

zeigen, wie vorsichtig man selbst mit der Anwendung der doch allgemein gebräuchlichen Bruttemperatur von 37° C sein muß. Scheller sah in einem Falle diagnostischer Typhusuntersuchung die nach 2 Stunden im Brutkasten negative Reaktion bei Zimmertemperatur deutlich positiv werden und in einem anderen Falle eine im Brutkasten sofort eingetretene Agglutination abnehmen, die bei Zimmertemperatur wieder zunahm. Gaehtgens beobachtete eine im Brutkasten 1:50 positive Paratyphusreaktion in der Zimmertemperatur auf 1:150 ansteigen. Es empfiehlt sich daher, immer die Röhrchen noch bei Zimmertemperatur stehen zu lassen, 12—16 Stunden (Konrich).

Eine neuere Modifikation stellt die von Mandelbaum empfohlene vor, welche auf der Pfaundlerschen Fadenreaktion beruht; nach Mandelbaum wäre dieselbe feiner als die Gruber-Widalsche; sie soll die Grenze der Diagnosestellung bei Typhus erweitern, indem sie bei geringer, zweifelhafter Agglutinationsprobe noch positiv ausfällt.

M. empfiehlt, wenige Bacillen in einer Mischung von einem Tropfen Blut und der 10- bis 15-fachen Menge von Natrium-Citratbouillon in einer Kapillarpipette 4 Std. lang bei 37° wachsen zu lassen. Stammt das Blut von Typhuskranken, so sind die Bacillen in lange Ketten ausgewachsen, stammt es nicht von Typhuskranken, so bleiben die Bacillen einzeln und beweglich. Nach überstandenem Typhus, selbst nach 11 Jahren, fiel die Reaktion positiv aus. Die Agglutination durch Mitagglutinine fällt eventuell auch positiv aus, wenn sie auch kürzer besteht als die durch das Hauptagglutinin. Eine Differentialdiagnose wäre auch hier möglich. Für die Praxis genügt die Einsendung eines Tropfens Blut in zugeschmolzener steriler Kapillarpipette.

Während Ast das Verfahren der Gruber-Widalschen Probe als überlegen bezeichnet, fand es Belonowski wenig zuverlässig; Gaehtgens & Kamm halten außer der Kettenbildung auch das Fehlen von Eigenbewegung für ein positives Ergebnis notwendig. Dennemark betont die Notwendigkeit von verschiedenen Verdünnungen, weshalb die Methode nicht einfacher sei; Fadenbildung tritt oft recht viel später auf; durch Hemmungserscheinungen können gerade in hohen Konzentrationen Kettenbildungen ausbleiben, in großen Verdünnungen auftreten, ja in 4,4 Proz. der Fälle blieb durch das bakterizide Vermögen des Serums die Reaktion ganz aus. Nach Massi, der zwar Mandelbaum bestätigt, wäre es wahrscheinlich, daß das Phänomen größtenteils auf den hohen Gehalt von zitronensaurem Natron zurückzuführen wäre, was die Spezifizität der Reaktion sehr beeinträchtigen würde; dazu kommt der Einfluß der roten Blutkörperchen (vgl. oben). So erscheint es mit dem, was früher über die Fadenreaktion überhaupt angeführt worden ist, begreiflich, daß Belonowski, Gaehtgens & Kamm, Dennemark, Kessler, die Gruber-Widalsche Probe für sicherer halten und in der Fadenreaktion keinen Ersatz derselben erkennen, ja daß Bürgers für Untersuchungsämter die Methode als geradezu unbrauchbar bezeichnet.

Dagegen stellt die Verwendung eines Bakterienextrakts (mit einer dünnen Bakteriensuspension) als Antigen, wie es das Fickersche „Typhus-“ und das „Paratyphus-Diagnostikum“ sind, eine zweifellos sehr verwendbare Modifikation vor. Die Herstellung des Diagnostikums ist zwar nicht bekannt, ich überzeugte mich jedoch, daß die Aufschwemmung einer Bakterienkultur von ca. 160 qcm Agarfläche in 1 Liter destilliertem Wasser nach Zusatz von 5 ccm konzentrierter Karbollösung, mehrtägiger Mazeration im Brutkasten, nach Filtration durch Papier ein sehr brauchbares Präparat liefert, welches sich

einige Zeit konstant erhält, dann aber ebenso wie das Höchster Präparat zurückgeht (von Stenitzer), so daß eine von Zeit zu Zeit vorzunehmende Kontrollprüfung von Seite der Institute resp. Fabriken angezeigt ist. Die leicht trübe Flüssigkeit klärt sich auf Zusatz des agglutinierenden Serums und seiner Verdünnungen und scheidet im Verlauf von Stunden, 8—12—18, bei Zimmertemperatur ein wolkiges Sediment aus; seine Brauchbarkeit wird von der Mehrzahl der Autoren bestätigt (J. Mayer, v. Radzikowski, Clamann, Gramann, Lion, Güttler, Kien, Sadler, Kayser, Klemens, Kafka, Minelli, Stühlinger, Ehrsam, Meyerhoff, Fiorentini, Ceni, Memmi u. a.); manche Autoren, wie Skutetzki, v. Loghem, Meyerhoff, Citron, Ceni („Typhusdiagnostikator" von Sclavo) halten die Methode in der Praxis der Gruber-Widalschen sogar überlegen, da sie weniger Fehlerquellen berge, besonders wegen des Ausbleibens der Agglutination bei anderen Krankheiten (Meyerhoff) resp. Fehlens oder starker Herabsetzung der Mitagglutination (Minelli) oder wie sich Klemens, Kafka ausdrücken, „die gattungsspezifischen Werte erscheinen abnorm niedrig"; auch die „Hemmungen" werden herabgedrückt; daneben bezeichnen manche die Reaktion mit lebenden Bacillen allerdings auch als die empfindlichere, wie z. B. Güttler, auch Ceni. Nur Verwoort, Schrumpf sprechen sich ungünstig aus und Göthlin kommt sogar zum Ausspruche, die Fickersche Methode verdiene kaum den Namen einer Universalmethode. Es ist nicht auszuschließen, daß die Beschaffenheit des Präparates, dessen mit der Zeit eintretende Veränderlichkeit eben erwähnt wurde, damit zusammenhängt, wie denn z. B. Kafka auch angibt, mit einem neuen Präparate bessere Resultate erhalten zu haben als mit dem von Güttler benützten (vgl. oben v. Stenitzer).

Noch wäre gewisser abnormer Verhältnisse zu erinnern, sowohl an der Bakteriensuspension als am Serum, die namentlich von Bedeutung werden, wenn die Reaktion mit einer bestimmten Kultur resp. mit einem bestimmten Serum vorgenommen werden muß; dahin gehören die abnormen Verhältnisse der Agglutinabilität, wie Spontanagglutination und Inagglutinabilität, die im folgenden Anhange ausführlich besprochen werden sollen, und das sogenannte Hemmungsphänomen am Serum.

Bezüglich der Hemmung der Agglutination bei stärkerer Konzentration des Serums (vgl. S. 581) wäre besonders auf das Vorkommen dieser Erscheinung schon bei frischen Seris aufmerksam zu machen (de Waele & Volk, Scheller, de Blasi, Ceritto, Lipstein, Falta & Noeggerath). Ceritto sah Hemmung noch bei 1 : 100. Wenn nicht höhere Verdünnungen angelegt werden (über 1 : 100), so kann die Erscheinung zu einer wichtigen Fehlerquelle werden, und kann namentlich, wenn die Hemmung für andere Bakterien nicht besteht, direkt zu Fehldiagnsoen führen. So beobachteten Korte & Steinberg bei einem Typhusfall Hemmung der Agglutination gegenüber Bac. typhi bei 1 : 80 makroskopisch, 1 : 40 mikroskopisch, während Paratyphus von 1 : 10 an agglutiniert wurde. van Loghem (analoge Beobachtung) möchte annehmen, daß im Serum der Typhuskranken Antikörper vorhanden sind, welche eine größere Affinität für Typhusbacillen besitzen als die Agglutinine. Erhitzen des Serums auf 56° C läßt diese Hemmung verschwinden.

Bezüglich anderer Fehlerquellen sei auf die Abschnitte „Normalagglutination", „Mitagglutination" etc. verwiesen. Zu erwähnen wäre,

daß auch bei anderen, nicht infektiösen Prozessen eine höhere Agglutinationskraft des Serums beobachtet wird. So fand Lüdke bei 8 Chlorotischen 6mal Agglutination auf Typhusbacillen (4mal 1:60, 2mal 1:40), Ebstein angeblich nach vorausgegangener Brommedikation.

Typhuskrankensera bewahren nach Sachs-Müke ihren Titer im Eisschranke durch mindestens 6 Wochen, auch 70—90 Tage, ebenso in Zimmertemperatur, vor Licht geschützt. Haendel & Hine empfehlen zur Konservierung im flüssigen Zustande Phenol (10 Proz. einer 5-proz. wässerigen Karbol-Glyzerinlösung von 5:20:100).

Anhang.

Ueber die Agglutinabilität der Bakterien.

Bei der hohen Wirksamkeit mancher Sera scheint, zumal uns eine absolute Mengenbestimmung des Agglutinins fehlt, auch der Agglutinabilität der betreffenden Bakterien eine nicht geringe Bedeutung zuzukommen.

Nicolle & Trenell hatten bereits ausgeführt, daß man nach der Agglutinabilität dreierlei Gruppen unter den Bakterien unterscheiden könne: solche mit guten agglutinativen Eigenschaften wie Typhusbacillen, verschiedene Rassen des B. coli und nahestehende Formen wie Psittakose, B. enteritidis, Dysenterie usw., die Choleravibrionen und ihre Verwandten, Pyocyaneus, Proteus, Rotz, Pest; solche mit geringerer und oft sehr schwankender Sensibilität: Diphtheriebacillen, Milzbrand, B. tetani, septique, Tuberkelbacillen, B. influenzae, Meningococcus, B. Chauvoei, Staphylokokken, Streptokokken, Pneumokokken usw., Soor und Hefen, und endlich drittens solche, die so wenig empfindlich sind, daß sie fast refraktär erscheinen, eine Agglutination gänzlich fehlt oder nur im konzentrierten Serum 1:1 zustande kommt; zu dieser Gruppe gehören der Friedländersche Pneumoniebacillus, Sklerombacillus, B. mucosus, also vornehmlich die sogenannten Kapselbacillen. Die Ursache für dieses verschiedene Verhalten war lange Zeit ganz unklar; für die Kapselbakterien vermutete ich (I. Aufl., S. 753), daß dieselbe durch ihre Schleimhüllen bedingt sei.

1. Hyp- oder Inagglutinabilität.

Es lassen sich nun mehrere Arten der Inagglutinabilität unterscheiden; das eine Mal hat eine ganze Art, ja eine Gruppe von Bakterien diese Eigenschaft, wie es bei den Kapselbakterien der Fall ist, das andere Mal sind nur einzelne Stämme einer Art, deren Angehörige sonst gut, ja sogar leicht agglutinabel sind, nicht oder auffallend wenig ausflockbar, so daß sie sich wie nicht zu derselben Art gehörig verhalten; das kann auch künstlich hervorgerufen werden. So ist es bekannt, daß gut agglutinable Bakterien, wie z. B. Typhusbakterien, durch Erhitzen auf 65° C (Widal, Sicard, Van der Velde, Eisenberg & Volk etc.) oder durch Behandlung mit Säure (in $^1/_4$-proz. Normal-HCl oder 10-proz. HCl aufgeschwemmt und eine Stunde bei 37° C gehalten) trotz sorgfältiger Neutralisation die Agglutinabilität verlieren. Auch durch Behandlung mit konzentrierten Salzlösungen werden Bakterien inagglutinabel.

Nicht alle Bakterien verhalten sich gleich; so ertragen Choleravibrionen die Erhitzung ohne Beeinträchtigung, und durch Säure-

behandlung wird ihre Agglutinabilität nur stark herabgesetzt, aber nicht aufgehoben. Durch Erhitzen, durch Behandlung mit Säure inagglutinabel gewordene Bakterien können aber noch Agglutinine aus dem Serum aufnehmen, ja in unveränderter Menge binden; die Inagglutinabilität liegt somit in der sogenannten 2. Phase (s. später) des Agglutinationsvorganges.

Die Verminderung der Agglutinabilität tritt allmählich ein, so daß bei auf 65–70° erhitzten Bakterien noch unvollkommene, spurenweise Agglutination erfolgt, erst bei auf 80° erhitzten Typhusbacillen bleibt dieselbe ganz aus. Wie PORGES nachwies, ist dieser Zustand der erhitzten Bakterien nur vorübergehend; durch Erhitzen auf 100° C und darüber, sowohl der durch Erhitzen auf 65° C als der durch Säurewirkung inagglutinabel gewordenen Bakterien läßt sich derselbe wieder beheben. B. DREYER zeigte dies für B. coli und unabhängig von ihm PORGES in systematisch durchgeführten Untersuchungen. Die Empfindlichkeit der auf 100° erhitzten Bakterien auf das Agglutinin ist allerdings viel geringer. Die an eine bestimmte Temperatur gebundene Behinderung der Ausflockbarkeit schien durch einen Hemmungskörper veranlaßt, und tatsächlich fand PORGES, daß ganz inagglutinable auf 80° erhitzte Typhusbakterien durch wiederholtes Aufschwemmen und Abzentrifugieren mit physiologischer ClNa-Lösung wieder vollständig agglutinabel werden. Die hemmende Substanz erwies sich als das aus dem Bakteriennukleoproteid abgespaltene Nuklein, nach dessen Abbau sich die Agglutinabilität wiederherstellt.

Wird eine Typhusbacillenaufschwemmung mit dem fünften Teil einer 1/4-norm. NaOH versetzt, gut geschüttelt und sofort wieder neutralisiert, so ist die jetzt schleimig gewordene Aufschwemmung, auch bis zur normalen Viskosität verdünnt, inagglutinabel; nach Erhitzen auf 100° C tritt aber Agglutination ein; durch die Einwirkung von Alkalien wird aus Hefezellen und Bakterien Nuklein abgespalten (KOSSEL, GALEOTTI) und PORGES fand für die schleimig gelöste Substanz von Typhusbacillen die Fällungsreaktionen der Nukleine und Glykoproteide, in ihren Spaltungsprodukten wies er Phosphor und ein Kohlehydrat nach.

In saurer Lösung erfolgt die Hydrolyse der Nucleoproteide schneller, so daß eine in saurer Lösung auf 80° erhitzte Kultur in kurzer Zeit agglutinabel wird, während die bei neutraler Reaktion erwärmte inagglutinabel bleibt. Die Wirkung des „Hemmungskörpers“ beruht darauf, daß er die Stabilität der Bakterienaufschwemmung beeinflußt, so daß trotz eingetretener Bindung des Agglutinins die Ausflockung ausbleibt. Ein weiterer Beweis hierfür ergibt sich daraus, daß auch die Salzfällungsgrenzen derartiger schwer oder nicht ausflockender Suspension steigen.

Auf solchen Verhältnissen beruht, wie PORGES nachgewiesen, die Inagglutinabilität der Kapselbakterien, des FRIEDLÄNDERschen Bacillus und ihm nahestehender Arten, wie des Sklerombacillus. LANDSTEINER konnte nur mit konzentriertem Serum eine Agglutination erreichen und alle folgenden Untersucher (z. B. DEFALLE) machten dieselbe Erfahrung. Dabei behalten diese Bakterienarten auch bei jahrelanger Kultur diese Eigenschaft bei, wie man sich bezüglich FRIEDLÄNDERscher Bacillen wiederholt überzeugt hat. Nach den Untersuchungen von PORGES, PORGES & PRANTSCHOFF beruht diese Inagglutinabilität der Kapselbacillen auf vermehrter Proteinbildung und wird durch partielle Hydrolyse des Proteins behoben; eine

Aufschwemmung von Friedländerbacillen in ClNa-Lösung mit dem vierten Volumteil einer $^1/_4$-Normalsäure versetzt und ca. 15 Minuten auf 80° C im Wasserbade erhitzt, rasch abgekühlt und mit $^1/_4$ Normalnatronlauge neutralisiert, gibt eine homogene, haltbare Suspension, die durch ein Immunserum, welches native Bacillen gar nicht beeinflußte, noch bis zur 500-fachen Verdünnung agglutiniert wird. Ich hatte unter den Ursachen für die Inagglutinabilität der Kapselbakterien in der 1. Auflage dieses Handbuches auf eine mögliche Störung des Agglutinationsvorganges in seiner 2. Phase hingewiesen. Daß dem so ist, darüber besteht nach den Untersuchungen von Porges kein Zweifel mehr. Damit erklärt sich auch, daß, wenn durch Kulturänderungen die Kapselbildung herabgesetzt ist, die nativen Bacillen agglutinabel werden, so in einer Beobachtung Streits, daß bei 8° C kultivierte Friedländerbacillen, die trocken wachsen, leichter agglutinabel sind, als Brutschrankkulturen, und eine analoge Beobachtung Porges, nach der ein lang im Laboratorium gezüchteter Stamm, der auf der Gelatine typhusähnlich wuchs, durch Friedländerserum spontan agglutiniert wurde. Rodet gibt von einem Colistamm an, daß er zuerst von einem Immunserum nur 1 : 100 beeinflußt wurde, nach mehreren Monaten bei 1 : 2000 und später selbst bei 1 : 10000 agglutiniert wurde; das nähert sich bereits den gleich zu besprechenden Verhältnissen bei Typhusbacillen. Hierher gehören auch noch die geänderten Agglutinabilitätsverhältnisse des Bac. prodigiosus, der, bei Bruttemperatur gezüchtet, eine viel geringere Ausflockbarkeit besitzt, als wenn er bei Zimmertemperatur gewachsen ist (Kirstein), die eines auf gekochter Gelatine kulturell veränderten Dysenteriebacillus (Almagia) und die der bei Bruttemperatur gezüchteten, schleimbildenden Pestbacillen (Shibayama), welche viel schwerer agglutinabel sind.

Auch die Inagglutinabilität einzelner Stämme, sonst typisch gut und leicht agglutinabler Bakterien, wie z. B. des Typhusbacillus, ist auf solche Verhältnisse des Bakterienproteins zu beziehen. Für frisch vom Kranken oder aus der Leiche kultivierte Stämme wurde nämlich nicht selten eine verminderte Agglutinabilität durch Krankenserum, wie durch künstliches Immunserum im Vergleich zu Laboratoriumsversuchen hervorgehoben.

Widal & Sicard machten bereits die Beobachtung, daß das Serum der Kranken den eigenen Bacillus weniger agglutiniert als einen Laboratoriumsstamm; die schwere Agglutinabilität mancher Typhusstämme geben auch Achard & Bensaude, Kolle, Johnston & Mac Taggart, van de Velde, Förster, Milts, Nicolle & Trenel an; dies gilt besonders für aus der Leiche, auch aus dem Kranken kultivierte Stämme von Typhusbacillen; J. Courmont fand bei 8 Stämmen von 9 aus dem Blute Typhuskranker gezüchteter Typhusbacillen ein um das 3—4-fache geringeres Agglutinationsvermögen als bei Laboratoriumsstämmen. Sacquépée fand 3 Typhusstämme aus der Leichenmilz, ebenso Rehns, Rodet in 3 Fällen, Bancel 3 aus typhösen Abszessen, 3 aus Wasser, Remy, Cambier & Emery ebenfalls in Wässern Bakterien, die Typhusbakterien entsprachen, aber nicht agglutinierbar waren. In einer Reihe von Fällen trat nach monatelanger Kultur, aber auch bei neuen Generationen aus den längere Zeit gestandenen inagglutinablen Kulturen, die normale Agglutinationsfähigkeit auf. Zlatogoroffs Angabe von Nichtagglutinabilität aus Wasser gezüchteter Choleravibrionen und ihrer Umzüchtung wurde von Haendel & Woithe, Köhlisch nicht bestätigt. Tarchetti, Smith & Trennant züchteten auch aus Leichenmilzen oder vom Kranken wenig agglutinable Typhusstämme; letztere erwiesen ihre Natur als echte Typhusbacillen, indem mit ihnen hergestelltes Serum echte Typhusbacillen agglutinierte. In der französischen Literatur werden

diese Typhusstämme als Bac. eberthiformes bezeichnet. WEENEY berichtet auch über einen aus der Gallenblase kultivierten wenig agglutinablen Typhusbacillus.

Von deutschen Beobachtern wäre P. TH. MÜLLER zu nennen, der aus einer Leichenmilz ein Typhusstäbchen kultivierte, welches von hochwertigem Serum bei 1:50 nicht agglutiniert wurde, nach der 7. Ueberimpfung normale Agglutination zeigte, EISENBERG, der außer zwei wenig agglutinablen Typhusstämmen auch einen wenig agglutinablen B. pyocyaneus vom Menschen züchtete, und die Beobachtungen von LIPSCHÜTZ, der aus dem Harn Typhöser drei Stämme kultivierte (mit DRIGALSKI-CONRADIschem Nährboden), die selbst bei 200- und 1000-facher Verdünnung eines hochwertigen Typhusimmunserums (1:20000) zweifelhafte, resp. negative Resultate gaben, nach 3 Monaten zeigten alle drei Stämme Agglutination bei 1:20000.

Am interessantesten ist wohl die hierher gehörige Beobachtung von R. SCHMIDT, nach welcher ein solches Stäbchen längere Zeit in Ansehung des Krankheitsfalles und der negativen Typhusagglutination für ein Paratyphusstäbchen gehalten wurde; der Fall ist auch als „Paratyphusbacillose" publiziert.

Bei einem 30-jährigen Manne, der das Bild einer von einer Cholecystitis ausgegangenen Pyämie darbot, ließ sich intra vitam aus dem Harn, post mortem aus Niere, Lunge, Leberabszeß und aus den endocarditischen Auflagerungen der Tricuspidalis ein Bacillus züchten, der sich kulturell wie ein Typhusbacillus verhielt, aber von einem hochwertigen Typhusimmunserum nicht agglutiniert wurde, so daß er für einen B-Paratyphus gehalten wurde. Wie KORTE mitteilt, und SCHMIDT selbst es ihm auch geschrieben, wurde der Bacillus nach Monaten vom Typhusimmunserum wie ein Laboratoriumsstamm agglutiniert.

Eine ähnliche Vorbehandlung der Bakteriensuspension wie bei den Kapselbacillen (z. B. längeres Erhitzen auf 100° C) dürfte sich auch bei fraglichen inagglutinablen Typhusbacillen empfehlen.

Manchmal gelingt es durch Beeinflussungen der Kulturen, solche Zustände des Bakterienproteins hervorzurufen, daß In- oder starke Hypagglutinabilität eintritt.

NICOLLE & TRENEL verfolgten das Zustandekommen inagglutinabler Typhusstämme systematisch und fanden, daß Kultur bei 42° C typisch agglutinablen Stämmen die Agglutinabilität raubt; diese kehrt jedoch nach mehrmaliger Uebertragung und Aufenthalt der Kultur bei 25° C und später bei 36° C wieder zurück; BAIL und EISENBERG bestätigten diese Befunde; letzterer fand bei einem durch Kultur bei 42° C inagglutinabel gewordenen Stamme keine Aenderung in der Absorption des Agglutinins. NICOLLE & TRENEL leugnen die Existenz dauernd inagglutinabler Rassen, was nach der jetzt bekannten Ursache für diese Inagglutinabilität sich erklären läßt. Damit fällt auch die Beziehung der Inagglutinabilität zum Verlust der Bewegung, der bei den 42°-Bacillen eintritt, welche die genannten Autoren (ebenso wie DEFALLE) in der Beschaffenheit der Tunique ciliée und in ihrer Bedeutung für die Agglutination annahmen. LÉSIEUR erinnerte bereits an bewegliche und nicht agglutinable Bacillen.

TARCHETTI sah bei Kultur von Typhusbacillen in Glyzerinbouillon mit steigendem Sodazusatz Abnahme der Agglutinabilität (nach 18 Generationen Schwund derselben), HIRSCHBRUCH bei Kultur auf mit sterilisierter Pyocyaneus-Bouillon versetztem Agar, während KIRSTEIN auf stark alkalischem Nähragar (0,24 Proz. Natr. caust.) nur eine geringe Herabsetzung erzielte; Sauerstoffzufuhr und -absperrung, Züchtung auf Harnagar, saurem Kartoffelagar blieben resultatlos, oder es trat Steigerung der Agglutinabilität ein. Wie die Art der Kultur Morphologie und Biologie beeinflussen kann (GRASSBERGER & SCHATTENFROH), so kann dies auch bezüglich der Agglutinabilität der Fall sein.

Von Choleravibrionen sah LAUBENHEIMER, daß sie bei der Züchtung auf dem stark alkalischen Nährboden von DIEUDONNÉ weniger agglutinabel sind. GLÄSSNER fand bei Typhus- und Colibakterien, nach der Art der Stickstoffquelle, bei reinem Eiweiß die Agglutinabilität am besten, bei Aminosäuren am niedrigsten, das Bindungsvermögen wies dabei keine bedeutenden Unterschiede auf. Ob PASSINIS Beobachtung, nach der Bac. putrificus, auf eiweißhaltigen, zuckerfreien Nährböden gezüchtet, ein Serum erzeugt, welches auch den Bacillus der Gas-

phlegmone agglutiniert, wenn er analog auch zuckerfrei kultiviert ist und sich in der analogen sporenfreien Vegetationsform befindet, auch hierher gehört, läßt sich nicht sagen; es wäre möglich, daß es sich hier auch um eine andere Aenderung der agglutinablen Substanz (Adsorption von Substanzen) handelt (vgl. S. 573). Ein Serum, hergestellt mit der zuckervergärenden Kultur des Gasphlegmonebacillus, agglutiniert außer diesem auch den eiweißspaltenden Stamm, nicht aber den Bacillus putrificus.

Mit dem Zustandekommen dieser Art von In- oder Hypagglutinabilität erklärt sich die wiederholt konstatierte Tatsache, daß die stärkere oder geringere Agglutinabilität eines Stammes durchaus nicht mit seinem größeren oder geringeren Bindungsvermögen begründet ist, auch nicht mit der Virulenz zusammenhängt, wie Wassermann, R. J. Cole, Petterson, Gross u. a. gezeigt haben. Porges, Eisenberg fanden trotz eingetretener Inagglutinabilität, v. Eisler & So an zahlreichen leicht und schwer agglutinablen Stämmen von Typhusbacillen dasselbe Bindungsvermögen für das Agglutinin. Shibayama fand dasselbe bei den erwähnten verschieden agglutinablen Pestbacillen; wie Porges fanden auch v. Eisler & So, daß schwer agglutinable Stämme von Ammonsulfat weniger leicht ausgeflockt werden, woraus hervorgeht, daß die Agglutinabilität eines Stammes von der 2. Phase des Agglutinationsphänomen abhängig ist (vgl. Abschn. IX).

So lange diese Verhältnisse nicht bekannt waren, erschien es paradox, daß dieselben schwer agglutinablen Bakterien im Tierkörper ein Serum erzeugten, welches andere Stämme derselben Art in hohen Verdünnungen agglutinierte, sie selbst aber wieder nicht oder nur mangelhaft beeinflußte. Man sprach von geringer Zahl der „Rezeptoren" (z. B. Rufus J. Cole). Es besteht wohl kein Zweifel, daß diese Erscheinung eine Erklärung finden kann, in der Stabilität der Suspension durch Menge oder Beschaffenheit ihres Proteins, was auf die agglutinogene Wirkung gar keinen Einfluß hat. Noch eine andere Erscheinung ist jetzt erklärbar; es gibt Typhus- und Dysenteriebacillenstämme, die von einem Immunserum nur unvollkommen ausgeflockt werden, welches andere Stämme komplett agglutiniert. Die Erklärung liegt in der Zusammensetzung einer solchen Kultur aus verschieden leicht und schwer agglutinablen Varietäten. Porges & Prantschoff konnten bei einem solchen Typhusstamm aus der obenstehenden trüben Flüssigkeit einen schwer agglutinablen Stamm mittels des Plattenverfahrens kultivieren, der jedoch nach einstündigem Erhitzen auf 100° C vollständige Ausflockung bis zu 1000-facher Serumverdünnung gab; in analoger Weise gelang Moon die Kultur von bei der Agglutination anderer freigebliebener Bacillen, die sich von der der agglutinierten Bacillen durch eine Abnahme der Agglutinabilität auszeichneten, Spielarten, welche entweder reichlich, oder Protein von solcher chemisch-physikalischer Beschaffenheit bilden, daß die Stabilität der Bakteriensuspensionen dadurch gesteigert ist.

Eine bekannte, mehrfach benutzte Methode, Inagglutinabilität künstlich hervorzurufen, ist die der Kultur auf oder in agglutininhaltigem Nährboden. Dieselbe entstand aus Erwägungen über die Ursache der fehlenden oder verminderten Agglutinationsfähigkeit aus der Leiche oder vom Kranken gezüchteter Typhusbacillen. E. Sacquépée konnte durch Züchtung von Typhusbacillen in Kollodiumsäckchen in der Bauchhöhle immunisierter Ratten eine inagglutinable Varietät erzeugen, woraus er zur Vorstellung kam, daß die Inagglutinabilität der aus dem menschlichen Körper gezüchteten Bacillen eine „Erscheinung

der Angewöhnung" infolge des langen Aufenthaltes in einem infizierten oder immunisierten Organismus wäre. P. Th. Müller, Kierstein, Cole und Hirschbruch haben durch Kultur in konzentrierter Serumbouillon 1:25 (Titer 1:10000) oder 1:50 (Titer 1:50000) Rassen erhalten, welche eine verminderte Agglutinabilität besaßen (1:1000 gegen 1:50000 der normalen Typhusbac.). Schon früher hatten Ransom & Kitashima (1898) für Choleravibrionen bei Kultur im Immunserum verminderte Agglutinabilität beobachtet, ohne daß eine andere Veränderung an der Kultur bemerkbar war.

Im Gegensatz zur unveränderten Agglutininbindung auch bei schwer agglutinablen Stämmen wurde bei dieser durch Kultur in Immunserum erzeugten Hypagglutinabilität mehrfach (Müller, Cole) eine Herabsetzung der Bindungsfähigkeit konstatiert, die Müller mit Rezeptorenschwund, Bail mit Selektion aus rezeptorenarmen Individuen erklärte. Doch sind die Befunde nicht gleichartig; Pfeiffer und Friedberger, welche, da Kultur im Immunserum die Virulenz steigern kann (Walker, Hamburger), diese Methode zur Konservierung der Virulenz empfehlen, fanden mit der Steigerung der Immunkörperbindung auch vermehrte Bindung von Agglutinin; Tarchetti fand Zunahme, Walker, Cohn keine Veränderung der Agglutinierbarkeit; Hamburger erhielt bei in Immunserum gezüchteten Choleravibrionen Spontanagglutination, die sich bei der Uebertragung bis in die 26. Generation erhielt; Nicolle sah dasselbe bei einer in Immunserum kultivierten Typhuskultur (bis zur 5. Generation). Hamburgers Choleravibrionen absorbierten nun keine nachweisbare Menge von Agglutinin, gaben auch kein solches an die Flüssigkeit ab. Es scheinen somit bei dieser Hypagglutinabilität verschiedene Verhältnisse vorzuliegen; diese sind noch nicht untersucht, und man kann nur Vermutungen aufstellen, wie etwa, daß in der Beobachtung von Müller, Kirstein eine teilweise Adsorption von Agglutinin erfolgt sei, mit einer derartigen Aenderung des Bakterienproteins, daß die Stabilität der Suspension gesteigert ist, während bei Hamburger eine so ausgedehnte und feste Absorption des Agglutinins zustande kam, daß sich die Vibrionen wie Agglutininbakterien verhielten; denn die Agglutination trat bei Gegenwart von Salz auf und wurde durch Erhitzen auf 80° C nicht behindert.

Mit der Bindung eines dem Agglutinin zugehörigen Körpers, einem Agglutinoid oder einer Vorstufe, wurde die Hypagglutinabilität der Typhusbacillen im Peritonealexsudate des Meerschweinchens in Beziehung gebracht; Bail konstatierte für diese, daß sie nur durch starke Serumkonzentrationen (1:20) agglutiniert werden und bei niederen Konzentrationen auch kein Agglutinin binden; schon in der ersten Generation geht jedoch diese Inagglutinabilität verloren. Nach Porges besteht aber keine eigentliche Inagglutinabilität, sondern lediglich eine Agglutinationsverzögerung. Bail hatte nur bis zu 6 Stunden beobachtet; innerhalb dieser Zeit bleibt die Agglutinationshöhe der Exsudatbakterien deutlich herabgesetzt; nach 24 Stunden erreicht dieselbe aber nicht nur die der normalen Kultur, sondern geht mitunter sogar über dieselbe hinaus. Die Ursache der Verzögerung ist noch nicht erhoben.

Dürfte bei der Hypagglutinabilität unter gleichzeitiger Herabsetzung der Bindungsfähigkeit für Agglutinin, wie es bei der Züchtung auf agglutininhaltigem Nährboden der Fall ist, eine molekulare

Aenderung des Proteins (durch partielle Bindung von Agglutinin) eine Rolle spielen, so dürfte das gewiß dort der Fall sein, wo die Bindungsfähigkeit ganz verloren gegangen ist und neue agglutinatorische Eigenschaft aufgetreten sind (vgl. S. 573).

2. Die Spontanagglutination.

In noch höherem Maße als für die natürlich zur Beobachtung kommende In- resp. Hypagglutinabilität ist die Beschaffenheit des Bakterienproteins von maßgebender Bedeutung bei der Spontanagglutination; diese tritt ohne Zusatz von Serum bereits in der kochsalzhaltigen Aufschwemmung der Bakterien ein, besteht also in einer äußerst labilen Beschaffenheit der Suspension, so daß diese bereits durch Salze ausgeflockt wird. Im allgemeinen ist eine Bakteriensuspension ziemlich dauerhaft und leicht herstellbar; nur bei einigen Arten bestehen Schwierigkeiten für ihre Herstellung (z. B. Tuberkel-, Xerose—Diphtheriebacillen), die zweifellos in der Beschaffenheit der Bakterienkörper begründet sind. Manchmal flocken aber sonst leicht und für längere Zeit aufschwemmbare Bakterien schon in der Kochsalzlösung aus. Verminderung des Bakterienproteins, weit vorgeschrittene Hydrolyse oder Zerstörung des Nukleoproteins oder ähnliche chemisch-physikalische Veränderungen des Bakterienproteins sind die Ursache für eine so große Labilität der Suspension, daß sie bereits durch sonst Bakterien nicht ausflockende Salze, wie NaCl ausgeflockt wird. Zuerst wurde dieses Phänomen von Nicolle beschrieben.

Neisser & Friedemann, ähnlich auch Bechhold, sprechen sich direkt dahin aus, daß die Bakterienproteine der fällenden Wirkung der Salze gegenüber die Rolle eines Hemmungskörpers spielen; so wie sie imstande sind, die Fällungsgrenzen an sich fällender Salze nach oben zu verschieben, so können sie auch die Fähigkeit, eine Suspension gegenüber sonst überhaupt nicht fällende Salzlösungen zu schützen, verlieren.

Porges fand, daß längeres Erhitzen einer Typhusbacillen-Aufschwemmung in saurer Lösung zur Spontanagglutination derselben führt, wie durch die Zerstörung eines „Hemmungskörpers"; von verschiedenen Autoren wurde die Erscheinung vermutungsweise als physikalischer Ausflockungsvorgang gedeutet. Auch für spontan ausflockende Bakterien fanden Porges & Prantschoff (Choleravibrionen), daß dieselben Agglutinine binden, wenn auch weniger als eine normale Kultur, was mit der Menge und Beschaffenheit des Bakterienproteins, der agglutinablen Substanz, zusammenhängen wird. Die Beobachtung Hamburgers vom Fehlen der Agglutininbindung bei seinen spontanausflockenden Choleravibrionen (von agglutininhaltigen Nährsubstraten) nimmt wohl eine besondere Stellung ein.

Für den Zusammenhang der Spontanagglutination mit der geringen Stabilität der Suspension beweist außer dem bereits angeführten grundlegenden Unterschiede im Verhalten zu Salzen (Salzfällung) auch das Verhalten gegenüber Agglutinin; die Spontanagglutination wird, wie Porges & Prantschoff zeigten, durch einen Ueberschuß von Agglutinin oder noch besser von erhitztem, überschüssigem Agglutinin aufgehoben. Dieses Verhalten steht ganz in Parallele zur ausflockungshemmenden Eigenschaft des Serums auf eine Mastixsuspension; nach Neisser & Friedemann sowie Bechhold wird letztere

durch eine überschüssige nicht mehr fällende Menge von Serum gegenüber der Ausflockung durch Salze geschützt, weshalb hier von „Schutzkolloid“ gesprochen wird. Ferner stehen damit in Uebereinstimmung die Versuche von Porges & Prantschoff, nach denen spontan ausflockende Kulturen von Typhus-, Dysenterie-, Colibacillen (alter Laboratoriumsstamm) und Choleravibrionen nach kurzem Erhitzen auf 80° C die Spontanagglutination verlieren; nach längerem Erhitzen auf 100° C (eine Stunde) tritt dieselbe wieder auf. Während somit die durch Erhitzen auf 80° C zustandekommende Aenderung des Bakterienproteins zur Inagglutinabilität führt, erhöht sie hier die Stabilität der Suspension soweit, daß die spontane Ausflockung ausbleibt und dieselbe wie eine normale durch Immunserum agglutinierbar ist. Porges & Prantschoff empfehlen daher für den Fall einer spontan agglutinierenden Vibrionenkultur, welche dadurch der gewöhnlichen Agglutinationsdiagnostik unzugänglich ist (z. B. Fall Friedberger & Lürssen), das Erhitzen auf 80° C, um die Stabilität der Suspension herzustellen, worauf die Agglutinationsprüfung durchgeführt werden kann.

Soweit durch Kultur auf gewissen Nährböden Erleichterung, Steigerung der Agglutinabilität künstlich hervorgerufen oder beobachtet worden ist, dürfte es sich zumeist um Verminderung oder um eine solche chemisch-physikalische Aenderung des Bakterienproteins handeln, so z. B. die leichtere Agglutinierbarkeit der in Traubenzuckerbouillon kultivierten und degenerierten Pneumokokken bei Heyrowsky oder Kirsteins Kultur von Typhusbacillen auf eiweißfreiem Asparaginagar (vgl. Glässner), ebenso die leichte Agglutinierbarkeit von lang gezüchteten Laboratoriumsstämmen, ja vielleicht gewisser Bakterienstämme überhaupt, bei denen die hohe Empfindlichkeit gegen starke Verdünnungen selbst von Krankenseris (z. B. Maltafieber, Rotz der Pferde), ja gegen Normalserum auffallend ist; auch die bei manchen Arten gleichzeitig häufiger zu beobachtende Spontanagglutination (z. B. Microc. melitensis) dürfte damit zusammenhängen.

Wie bereits erwähnt, nehmen spontan ausflockende Bakterien, welche durch Kultur auf agglutininhaltigem Nährsubstrat erhalten wurden und auch die Bindungsfähigkeit für Agglutinin eingebüßt haben (Hamburgers Choleravibrionen), eine Sonderstellung ein, bis die Verhältnisse bei denselben nicht noch genauer studiert sind.

Wir sehen somit (namentlich aus den Untersuchungen von Porges, Porges & Prantschoff), daß durch die Veränderung des Bakterienproteins bei ein und demselben Bakterium, z. B. dem Typhusbacillus, eine ganze Stufenleiter von nicht oder nur schwer agglutinablen Suspensionen bis über die Norm leicht und endlich spontan ausflockbaren künstlich hergestellt werden kann. Es liegt nahe, für die oben wiedergegebene Reihe der Agglutinabilität nach Nicolle ähnliche Verhältnisse im Bakterienprotein voraussetzen; für die Inagglutinabilität der Kapselbacillen ist der direkte Beweis erbracht, ebenso für die Agglutinabilitätsunterschiede innerhalb des Typhusbacillus.

IV. Agglutination und Immunität.

(Beziehungen der Agglutination zu anderen Immunreaktionen.)

Bei der 1. Bearbeitung in diesem Handbuche wurde die Frage der Beziehung der Agglutinine zur Immunität ausführlich be-

sprochen; die historische Entwickelung der Agglutinine hatte eine solche nahegelegt; hatten doch Gruber & Durham dieselben direkt als bakterienschädigende Schutzstoffe aufgefaßt und durch ihre Thermostabilität mit dem thermostabilen bakteriolytischen Immunkörper unbewußt identifiziert; durch die Schädigung der Bakterienhüllen sollte das Protoplasma der Bakterien den Alexinen zugänglich gemacht werden; aktive und passive Immunität sollten in gleicher Weise auf dem Vorhandensein der Agglutinine in den Körpersäften beruhen. Pfeiffer & Kolle[5] haben bereits im August desselben Jahres Widerspruch erhoben, indem sie das Phänomen der Agglutination als Ausdruck einer durch das Serum ausgeübten Lähmung (Paralysine) und gleichzeitigen Entwickelungshemmung erklärten, welches mit der Bakterizidie und der Immunität nichts zu tun habe. Dieselben Autoren hatten auch darauf verwiesen, daß Bakterienauflösung und Kügelchenbildung ohne jegliche Haufenbildung zustande kommen (z. B. Taubenserum auf Choleravibrionen), und daß die Agglutinine erschöpft resp. verschwunden sein können, während die spezifischen bakteriolytischen Immunkörper noch vorhanden sind (von Dieudonné[1, 2] bestätigt). Pfeiffer & Kolle erwiesen die Diskordanz der beiden Vorgänge, Fehlen der Agglutination bei Vorhandensein der Schutzkraft an Typhusrekonvaleszenten, Kolle bei Menschen, welchen Choleravibrionen subkutan injiziert worden waren, und zahlreiche Autoren, wie Achard[1], Levy, Förster, Evans (gegen Typhus schutzgeimpfte Soldaten aus der südafrikanischen Armee), Jürgens[1] (Verhalten der Typhusimmunkörper während der Erkrankung), Stern & Korte, Castellani (Dysenterie), Wassermann (Hogcholera), Aronson (Streptokokken), Neufeld[1] (Pneumokokken), Fischer[3] (Enteritisserum), Mertens (ältere Sera Pfeiffers) sowie die Untersuchungen von Friedberger, Tokanaya (bei Cholerabacillenträgern), Svenson (überstandene Cholera), Aaser (Schutzimpfung gegen Cholera), Müller & Oppenheim, Bruck (Gonokokkenserum), Vannod (Spezifizität der Ambozeptoren des Gonokokkenserums gegenüber den Agglutininen, welche auch Meningokokken beeinflussen) u. a. erbrachten zahlreiche Beweise für den Mangel irgendeiner Kongruenz zwischen der Menge der Agglutinine und der Menge von bakteriziden Substanzen resp. Schutzkörpern.

Löwit & Schwarz konstatierten ein analoges Verhalten im Normalserum, indem im Phosphatplasma, dem bakterizide Eigenschaften fehlen, die Agglutinine erhalten sind.

Auch die älteren Anschauungen über eine gewisse Schädigung der Bakterien, als welche das eigentümliche flockige oder Sedimentwachstum in der Kultur bei Zusatz agglutinierenden Serums angesehen wurde, waren durch den Nachweis der erhaltenen Virulenz von Bordet, Salimbeni, F. Mesnil (Schweinerotlauf), Gheorghievski (Pyocyaneus), Issaeff, Metschnikoff, Pane (Pneumokokken) als unrichtig erwiesen, die Versuche Trumpps, der die Hypothese Grubers zu stützen versuchte, als nicht beweisend erkannt; abgesehen davon, daß bei den letzteren die Anwesenheit des bakteriolytischen Immunkörpers nicht auszuschließen ist, hat Gengou[1] auch nachgewiesen, daß die Agglutination für sich, durch die Verklumpung, eine Keimverminderung zur Folge hat.

Auch der Versuch Besredkas, daß von normalem Serum agglutinierte Typhusbacillen vom Meerschweinchen in Mengen vertragen

werden, welche nicht agglutiniert, sicher töten, ist nicht absolut beweisend; denn es wird nur die Phagocytose in größerem Umfange möglich, bei ihrer Behinderung töten auch die agglutinierten Typhusbacillen; nach VERNAY ist das überhaupt der Fall. METSCHNIKOFF[1] faßte sein Urteil dahin zusammen, daß man die Bedeutung der Agglutinine für die Immunität, wenn überhaupt nur als eine „untergeordnete oder akzidentelle“ bezeichnen könne.

WIDAL & SICARD[2] schlossen jede Beziehung der Agglutination zur Bakteriolyse aus dem Grunde schon aus, weil letztere ein vitaler Vorgang ist, während erstere auch bei abgetöteten Bakterien auftritt. Dazu kommen die Differenzen in der Produktion der Agglutinine und der bakteriziden Substanzen infolge vorausgegangener Veränderung der Bakterien oder bei Verschiedenheit der antigenen Körper des Bakteriums, nach der Art der Einverleibung und des Verhaltens bei verschiedenen Tieren entsprechend der Verschiedenheit ihrer Rezeptoren.

F. KASTEN erhielt bei Immunisierung mit bei 65° abgetöteten Typhusbacillen oder Choleravibrionen ein stark agglutinierendes Serum mit einem geringen Gehalt an bakteriziden Immunkörpern, bei der Immunisierung mit lebenden Bakterien relativ geringe Agglutination, aber starke Bakterizidie. Auch wir beobachteten bei den mit bei 65° C abgetöteten Typhusbacillen immunisierten Pferden hohe Agglutination (1:40000—1:50000) bei geringem Gehalt an bakteriolytischen Immunkörpern.

FRAENKEL & OTTO erzielten durch Füttern von Typhuskulturen bei Hunden ein agglutinierendes Serum, dessen immunisierende Eigenschaft außerordentlich gering war; im Gegensatze dazu enthält bei intraperitonealer Injektion von Typhusbacillen das Serum auch beim Hunde konstant einen Schutzwert. SCHWARZ und FRIEDBERGER konnten die Resultate FRAENKEL & OTTOS allerdings nicht bestätigen; auch SICILIANO (Paratyphus) erhielt keine nennenswerten Agglutinine, fast nur Schutzwert.

GENGOU[2] immunisierte 2 Hunde, den einen mit virulentem Milzbrand, den anderen mit dem abgeschwächten des I. Vaccin PASTEURS. Das Serum des ersteren agglutinierte virulente Milzbrandbacillen nicht, sondern nur die abgeschwächten (1:50), der zweite Hund lieferte ein agglutinierendes Serum, sogar in beträchtlicher Höhe (1:800). Die Immunität der beiden Hunde verhielt sich gerade umgekehrt, indem die des ersten Hundes eine viel höhere war als die des zweiten.

Bezüglich des Verhaltens beider Körper bei verschiedenen Tieren wären noch die älteren Untersuchungen von GHEORGHIEVSKJ anzuführen; er untersuchte ein Immunserum gegen Bacillus pyocyaneus von Ziegen, Kaninchen und Meerschweinchen. Das Ziegenserum agglutinierte 1:10000, das vom Kaninchen 1:2000—1:4000, das des Meerschweinchens 1:200—1:600. Trotz des hohen Agglutinationswertes des Ziegenserums fand sich ein beträchtlich geringerer Schutzwert gegenüber dem Kaninchenserum, dessen Wert gleich war mit dem an Agglutininen noch schwächeren Meerschweinchenserum.

Am schärfsten tritt die tatsächliche Verschiedenheit hervor in jenen Fällen, in denen dem Immunserum überhaupt nur die eine der beiden Eigenschaften zukommt, natürlich bei Infektionen, bei denen sonst Agglutinine und bakterizide Substanzen vorkommen.

WIDAL & NOBÉCOURT immunisierten Mäuse mit dem Urin von Typhuskranken; von 33 so behandelten Mäusen blieben 17 gegen eine sicher tödliche Dosis von Typhusbacillen am Leben, keines der Tiere zeigte jedoch eine Agglutinationsfähigkeit seines Blutserums.

Sehr klar tritt ferner der Unterschied hervor, wenn auf die Verschiedenheit der jeweiligen Antigene, die agglutinogenen Substanzen, Derivate der Bakterienkörpersubstanz einerseits und auf die toxischen Körper der letzteren anderseits Rücksicht genommen wird. So konnten BRIEGER & SCHÜTZE und BRIEGER & MAYER bei der Immu-

nisierung von Kaninchen mit einer aus Typhusbacillen gewonnenen Substanz ein stark agglutinierendes Serum erzielen, dessen bakterizide Kraft gar nicht gegen die eines Normalserums erhöht war.

Wassermann fällte aus Pyocyaneusfiltraten durch ein Immunserum die mit den agglutinablen und agglutinogenen Substanzen sehr nahe verwandten präzipitablen Stoffe aus. Das Präzipitat wurde abzentrifugiert, die klare Flüssigkeit wird einem Kaninchen intravenös injiziert. Einem anderen Kaninchen wird das originäre Pyocyaneusfiltrat (enthält unter anderen auch die präzipitablen und agglutinogenen Stoffe) intravenös injiziert. Das Serum beider Tiere agglutinierte vor der Injektion 1:20 Pyocyaneusbacillen nicht. Nach 8 Tagen wird das Serum beider Tiere auf den Agglutinationstiter und den bakteriziden Schutzwert geprüft. Das Serum des ersten Tieres zeigte in der Verdünnung von 1:20 unvollständige Agglutination und gewährte Schutz in der Menge von 0,1 ccm gegen eine halbe Oese Kultur, es ist also eine kaum merkbare Agglutinationskraft vorhanden. Das Serum des zweiten Tieres schützte ebenfalls in der Menge von 0,1 ccm gegen eine halbe Oese Kultur, agglutinierte aber in der Verdünnung 1:100 Pyocyaneusbacillen vollständig.

Endlich konnte M. Mayer aus den Schüttelextrakten nach Brieger & Mayer mittels Filtrieren durch 3 Agarfilter den größten Teil der agglutinogenen Stoffe zurückhalten, während die lysogenen Stoffe ungeschwächt passierten, und Neufeld fand, daß die von gelösten Produkten befreiten Granula der Choleravibrionen wohl die Bildung von Lysinen auslösen (0,002), nicht aber von Agglutininen (1:100 negativ).

Konnten in der ersten Bearbeitung bereits alle Beziehungen der Agglutinine zu wirklichen Immunitätserscheinungen abgelehnt werden, wie übrigens Gruber[4] selbst auf dem hygienischen Kongresse in Brüssel 1903 zugegeben hatte, daß diejenigen recht haben, „welche die Agglutinine als von den bei der Lyse beteiligten Antikörpern verschieden erklären,“ so haben dies die späteren Untersuchungen nur noch weiter bestätigt.

Damit wäre aber noch nicht ausgeschlossen, daß nicht doch das Auftreten und die Menge der Agglutinine resp. ihr Fallen oder Fehlen während einer Erkrankung wenn nicht direkt, so indirekt ein Zeichen der Abwehrfähigkeit des Organismus wäre. Während Widal[2] von allem Anfange an die Agglutination für ein Zeichen der Infektion (signe d'infection) hielt, wollte P. Courmont[1] auf das Verhalten der Agglutinine eine Art Seroprognostik gründen; auch Goldberg, Troussaint halten ein Anwachsen der Agglutinationsfähigkeit des Blutserums beim Typhus, namentlich gegen den eigenen Stamm) für ein Merkmal des erfolgreichen Selbstschutzes; auch Deutsch[1], der die Beziehung der Agglutinine zu Schutzkörpern ablehnt, meint, daß dieselben doch als Basis der immunisatorischen Kraft bezeichnet werden könnten. Nun ist es geradezu auffallend, daß man bei gesunden Tieren, man kann sagen konstant die Produktion von Agglutininen erzielen kann, wenn auch in verschiedener Höhe, diese Produktion aber bei Schädigung, Erkrankung der Tiere durch das Antigen, mangelhaft ist; ebenso scheinen nach neueren Untersuchungen bei gesunden Bacillenträgern (Typhus, Paratyphus) Agglutinine sich häufig zu finden. Hecker & Otto fanden bei einer kleinen Typhusepidemie im X. Korps neben 22 Typhuserkrankungen

bei 59 völlig Gesunden positive Gruber-Widalsche Reaktion, Dennemark bei 59 von 297 derselben Typhusinfektion ausgesetzten Gesunden Agglutination 1:50—1:200, ebenso von 155 Stubenkameraden bei 39. Dasselbe ist vielfach bei chronischen Bacillenträgern beobachtet worden, so daß die Agglutinationsprobe als orientierende Methode für die Eruierung von Typhusbacillenträgern empfohlen wird (Eccard, Dennemark).

Es gibt auch entgegengesetzte Angaben, z. B. von Jürgens für Typhusbacillen-, von Friedberger für Cholerabacillenträger. Möglicherweise liegt die Lösung darin, daß bei den Bacillenträgern zwei Arten sich finden, das eine Mal reiner Saprophytismus pathogener Bakterien im Darminhalt oder auch auf Schleimhäuten — keine Resorption bakterieller Körpersubstanzen, daher keine Agglutinine, das andere Mal sehr leichte, nicht anders zum Ausdruck kommende Infektion, bei der mit Gewebs- oder Bluteinwanderung der Bakterien, ihrem Zerfall in den Geweben oder im Blute die Aggutininbildung angeregt wird.

Aehnliche Beobachtungen gibt es auch bei Tieren; Petrie & O'Brien finden bei Meerschweinchen, die mit Bacillen der Fleischvergiftergruppe Aertryck, suipestifer gefüttert wurden und Bacillen ausschieden, deutliche Agglutinine im Serum; beim seuchenhaften Verwerfen der Rinder (Holth, Zwick) kann spezifisches Agglutinationskraft der Erkrankung vorausgehen (lange Inkubation). Im Gegensatz steht das Verhalten bei den menschlichen Erkrankungen (typisch bei Typhus und Paratyphus), bei denen Agglutinine zwar das eine Mal früh auftreten, in steigender Höhe sich halten, aber gar nicht selten lange Zeit überhaupt fehlen, oder erst in der Rekonvaleszenz erscheinen; ja Fälle mit positivem Bacillenbefund im Blute bei negativer Gruber-Widalscher Reaktion sind nicht selten; nach Gaehtgens war in 60,7 Proz. der Fälle mit negativer Widalscher Reaktion der Bacillennachweis im Blute positiv.

Dazu bieten die experimentellen Tatsachen, daß bei gesunden Tieren durch Blutschädigung, z. B. durch Blutgifte wie Hydroxylamin (Melnikowa & Wersilowa) trotz eintretender Regeneration ein irreparables Sinken des Agglutiningehaltes eintritt, oder nach vorausgegangener Blutschädigung die Bildung von Agglutininen außerordentlich erschwert und verlangsamt ist, eine mögliche bemerkenswerte Analogie. Demnach läßt es sich nicht so ganz ausschließen, daß nicht doch gewisse, nicht direkte, sondern indirekte Beziehungen zwischen der Agglutininproduktion und dem Abwehrzustande des Organismus bestehen, etwa so, daß dasselbe eine kommittierende Erscheinung wäre, deren Analyse uns aber bei der Komplexität der mitspielenden Faktoren von der individuell gegebenen Verschiedenheit angefangen, außerordentlich schwer ist. Stefanelli fand bei künstlicher Maltafieber-Infektion der Kaninchen, bei schwerer Infektion wenig (1:300) oder keine Agglutinine, bei leichter Infektion hohe (1:5000) Agglutination.

So kommt es, daß sich immer wieder Stimmen in diesem Sinne erheben. M. Mayer z. B. meint, daß ein absoluter Beweis dafür, daß die agglutinierenden Immunkörper mit der wirklichen Schutzkraft nichts zu tun haben, nicht geliefert sei. Auch die Anschauung von spezifischen Paralysinen neben Agglutininen, deren Existenz Sobernheim nicht für ausgeschlossen hält, würde damit zusammenhängen.

Mayer bezieht sich auf Basset-Smith, der, wie bereits andere Autoren, beim Maltafieber hohe Agglutinationskraft als ein günstiges Prognostikum, ein Sinken zu niederem Titer als ein ungünstiges erhob. Es wäre möglich, daß wir es beim Maltafieber mit einer Krankheit zu tun hätten, bei welcher ein derartiges Verhältnis störende Faktoren weniger häufiger vorkommen. Wie verschieden diese Faktoren sein können, zeigt auch die Tatsache, daß bei gewissen Krankheiten, wie beim Rotz, bei der Tuberkulose, ein diagnostisch unzureichender Agglutiningehalt durch Einverleiben des Antigens (Mallein, Tuberkulin) gesteigert werden kann. Koch und seine Mitarbeiter betrachten bei der Tuberkulinbehandlung das Auftreten und den Anstieg der Agglutinine als einen Index für die Erwerbung einer Immunität, indem die Annahme gemacht wird, daß, wie die agglutinogenen Stoffe des Präparates eine Reaktion auslösen, dies auch für die immunisierenden der Fall wäre.

Wie das häufige Vorkommen der bakteriolytischen Substanz mit den Agglutininen im selben Serum zum Irrtum ihrer Zusammengehörigkeit geführt hat, so verhält es sich vielleicht auch bezüglich der komplementbindenden Substanzen. Ballner & Reibmayer stellten einen so weitgehenden Parallelismus zwischen agglutinierendem und komplementbindendem Vermögen der Immunsera fest, daß sie von einem Zusammenhang beider Substanzen sprechen, der sich auch im zeitlichen Auftreten beider Antikörper äußere wie in der Abnahme resp. dem Verschwinden der komplementbindenden Stoffe nach der Absorption der Agglutinine. Dagegen ergaben die klinischen Untersuchungen bei Typhuskranken keine solche Uebereinstimmung; abgesehen davon, daß Leuchs, Zupnik & Spät, Posner die Agglutination der Komplementbindung für klinische Zwecke überlegen finden, ergab sich, wie auch bei Hirschfeld, der dieselbe streng spezifisch fand (im Gegensatz zu Leuchs, Posner), große Unabhängigkeit im zeitlichen Auftreten der Reaktion. In einer größeren Untersuchungsreihe erwies auch Altmann die Unabhängigkeit der komplementbindenden Stoffe, einerseits durch die sehr verschiedenen Titerverhältnisse der beiden Stoffe in manchen Seris gegenüber verschiedenen Stämmen (Paratyphus-, Typhus- und Coligruppe), ja Fehlen des einen bei Anwesenheit des andern und anderseits durch das verschiedene zeitliche Auftreten resp. Verschwinden derselben, analog wie Muir & Martin. Nach Amiradzibi sind Agglutinine und Bordetscher Antikörper verschieden und können unabhängig voneinander im Serum vorhanden sein (B. coli). Bei Paratyphus bleiben die Agglutinine nach Reinjektion ganz unbeeinflußt, während die komplementbindenden Stoffe verschwinden.

Die Möglichkeit eines Zusammenhanges beider Reaktionen ist mit der Ablehnung einer Beziehung der Agglutinine zu Ambozeptoren nicht erledigt. Bei dem Umstande, daß die Natur der komplementbindenden Substanzen nicht bekannt ist, die Erscheinung bekanntlich häufig neben Fällungsreaktionen (Präzipitation) auftritt, zwischen Präzipitinen und Agglutininen aber Beziehungen bestehen, so wäre ein Parallelismus oder ein kommittierender Vorgang nicht ganz abzulehnen. Berücksichtigt man hierbei, daß eine Umlagerung, Verklumpung etc. kleinster Kolloidteilchen auch ohne sichtbare Präzipitatbildung stattfinden kann, daß es auch eine sogenannte „Bindung“ bei der Präzipitation wie der Agglutination gibt, ohne daß eine sicht-

bare Fällung auftritt, so verlieren manche Argumente, die sich auf das ungleiche zeitliche Auftreten beider Reaktionen stützen (Komplementbindung vor Auftreten der Agglutination oder nach dem Verschwinden dieser), an zwingender Beweiskraft. Sachs und Altmann finden allerdings, daß die ganze Frage sich durchaus mit derjenigen nach dem Zusammenhang zwischen bakteriziden Ambozeptoren und Agglutininen deckt; sie weisen daher auch alle Beziehungen zwischen Präzipitationsvorgängen und Komplementbindung zurück, selbst in dem Sinne, daß diese nur ein indirekter Ausdruck stattgehabter Präzipitation wäre.

Ob Agglutination auch im Organismus stattfindet, erscheint recht zweifelhaft; die Agglutination der Spirochäten der Recurrens in der Milz (Sawtschenko) sagt hierfür zu wenig; Salimbeni konnte in eigens darauf gerichteten Versuchen keine finden.

V. Normal- und Immunagglutinine.

Vorkommen, Verbreitung, Entstehung, Ausscheidung und Vererbung.

Alle neueren Untersuchungen stimmen darin überein, daß wir die Agglutinine als eine dritte Art von Antikörpern zu betrachten haben, die aber nicht wie die Antitoxine und die Ambozeptoren mit den toxischen Bakterienprodukten und toxischen Bakterienbestandteilen Beziehungen haben, sondern mit den Bakterienkörpersubstanzen, den Proteinen, in ihrer Eigenschaft als körperfremdem Eiweiß. Bei jeder Blut- oder Gewebsinfektion werden mit dem Zugrundegehen der Bakterien, beim Freiwerden giftiger Bestandteile auch bakterielle Eiweißkörper zur Resorption gelangen; dasselbe wird auch bei der Resorption pathogener oder nicht-pathogener, ins Gewebe gelangter Bakterien der Fall sein; daher führt die Injektion und Resorption auch abgetöteter Bakterien (bereits von Widal, Durham erkannt), sowie die Resorption gelöster Substanzen aus Bakterienkulturen zur Bildung von Agglutininen, vorausgesetzt, daß dieselben Bakterienkörpersubstanzen enthalten; bekanntlich enthält das Diphtherieserum keine Agglutinine, da die Kulturfiltrate keine oder nur gelegentlich agglutinogene Substanzen enthalten. Martin, Prévot & Loiseau fanden nur bei Immunisierung mit jüngeren Giftlösungen eine mäßige Agglutination, die bald schwindet.

Malvoz machte aus der Beobachtung, daß alte filtrierte Milzbrandbouillonkulturen imstande sind, Milzbrandbacillen zu agglutinieren, Emmerich & Löw, weil die Pyocyanase Agglutination hervorrufe, die Annahme, daß die Agglutinine bakteriolytische, von den Bakterien gebildete Enzyme wären. Klimoff, P. Müller haben dargetan, daß die auf der Wirkung eines proteolytischen Fermentes beruhende Veränderung der Typhusbacillen nichts mit echter Agglutination zu tun hat. Auch Gruber, der die Annahme machte, daß die Agglutinine nur von den Bakterien abstammen könnten, hatte dabei eine Intervention des tierischen Organismus im Auge; dermalen besteht kein Zweifel, daß dieselben vom tierischen oder menschlichen Organismus gebildet werden.

Man nimmt auch für die Agglutinine einen ähnlichen Ursprung in der Vorstellung von Ehrlichs Seitenkettentheorie an wie für alle anderen Immunprodukte. Danach wären dieselben als abgestoßene Zellrezeptoren zu betrachten, welche auch sonst im Stoffwechsel eine uns allerdings noch unbekannte Funktion ausüben. Wir werden bei der Besprechung der Normalagglutinine noch Anhaltspunkte dafür gewinnen, daß für dieselben ein mehr spezifischer, nämlich doch mit

Bakterien in Beziehung stehender Ursprung wahrscheinlich wird. Ohne an dieser Stelle näher auf die Natur der Agglutinine einzugehen, sei angeführt, daß dieselben wie die Präzipitine als Eiweißstoffe zu betrachten sind, die den Globulinen zugehören; sie besitzen eine starke Beziehung zu den Bakterienkörpern und werden von letzteren elektiv aus einer Flüssigkeit absorbiert.

Man kann ganz allgemein sagen, daß alle Bakterien im Tierkörper zur Entwicklung von Agglutininen führen; sie brauchen nicht pathogen zu sein. Durham hat bereits Agglutinine gegen B. megatherium gefunden, ebenso Gruber; C. Sternberg[1] hat solche gegen die Boasschen Milchsäurebacillen, Vincent für den Bacillus mesentericus fuscus hergestellt. Allerdings existieren für B. megatherium und B. mesentericus gleichzeitig auch Angaben (Vincent) über die Erzeugung pathogener Rassen, und Sternbergs Meerschweinchen zeigten leichte Infiltrate. Wesentliche Bedingung für das Entstehen von Agglutininen ist nur die Resorption bakterieller Substanzen, ohne von den Verdauungssäften, und zwar speziell vom Magensafte, verändert zu sein; ihre Entwicklung bedarf einer gewissen unbestimmt langen Inkubationszeit. Ob noch ein maßgebender Faktor im tierischen Organismus anzunehmen sei, ist nicht erwiesen, doch wäre zu erinnern, daß bei herabgekommenen Tieren, bei schweren Erkrankungen (akuten Infektionen), bei schweren Schädigungen der künstlichen Immunisierung es nicht oder nur zur mangelhaften Bildung von Agglutininen kommt.

Wenn somit die Agglutinine als Reaktionsprodukte auf Bakterienkörpersubstanzen zu betrachten sind, und Agglutinine im allgemeinen für alle Bakterien entstehen, so ergeben sich doch bei den einzelnen Bakterien große Unterschiede in der Höhe der Agglutinationskraft und ihrer Intensität, Unterschiede, die allem Anschein nach nicht allein in den Verschiedenheiten der Sera ihren Grund haben, sondern in einer verschiedenen Empfindlichkeit der einzelnen Mikroorganismen für die Agglutinine (resp. wie S. 502 besprochen wurde, besonders in der Eigenschaft der Bakteriensuspensionen).

Normalagglutinine.

Bereits Gruber & Durham und ihr erster Schüler Grünbaum kannten die Agglutinationskraft des normalen Blutserums von Menschen und Tieren auf verschiedene Bakterien. So agglutiniert das normale menschliche Serum häufig Bacterium coli, Pyocyaneus, Staphylokokken, Vibrio Danubicus, Mäusetyphus, Typhusbacillen, Microc. melitensis, andere Bakterien, wie Cholera, Streptokokken, Bacterium Friedländer gar nicht (Kraus & Löw), während Posselt & Sagasser bei normalen Menschenseris außer für Typhus und Coli auch Agglutination für Choleravibrionen und Dysenteriebacillen fanden. Während Typhusbacillen selten mehr als durch eine Verdünnung 1:30 eines normalen menschlichen Serums agglutiniert werden, wird vielfach Bacterium coli noch in 50-facher Verdünnung agglutiniert und Staphylokokken in einigen Stunden noch in 100-facher Verdünnung; nach Kolle & Otto aber nur im konzentrierten Serum; der Bodensatz, der sich bei Verdünnungen entwickelt, ist nach letzteren Autoren keine echte Agglutination, da er sich beim Aufschütteln als Emulsion auflöst. Auch Tiersera agglutinieren sehr häufig verschiedene Bakterien.

Es agglutiniert Pferdeserum nach KRAUS & LÖW: Typhus, Coli, Vibrio Danubicus, Metschnikoff, Mäusetyphus, Staphylokokken, Milzbrand, Pyocyaneus, nicht agglutiniert werden: Choleravibrionen (nach KOLLE jedoch auch bei 1:40, BORDET) und Pestbacillen, nach HETSCH & LENTZ werden choleraähnliche Vibrionen noch bei 1:100—1:200 agglutiniert. Kaninchenserum agglutiniert bei der Mehrzahl der Beobachter Coli durchwegs, andere Mikroorganismen, wie Typhus, Pyocyaneus, Mäusetyphus, Vibrio Danubicus nur ausnahmsweise, nach KOLLE & OTTO auch Staphylokokken. NICOLLE & TRENEL haben im Serum normaler Kaninchen niemals Agglutination beobachtet, während GOLDBERG, LÖWIT & SCHWARZ, POSSELT & SAGASSER Agglutination auf Typhusbacillen, Vibrio Cholerae und Vibrio Metschnikoff im Normalserum von Kaninchen niemals vermißt haben. Auch im Normalserum der Katze, von Hunden, Gänsen, Enten, Hühnern (GENGOU) wurden Agglutinine gegen diese drei Mikrobenarten häufig gefunden (LÖWIT & SCHWARZ). Das Meerschweinchenserum zeigt kein so konstantes Verhalten gegen Coli und Typhus, wohl aber gegen Milzbrand, 1:40 (GENGOU). RISSLING fand die Normalsera von Pferd, Schaf, Rind, Schwein in Verdünnung von 1:10—1:100 agglutinierend für Bac. Proteus, Anthrax, Typhus (SCHELLER, Pferd 1 : 100) und Bact. coli, für die Bac. des Schweinerotlaufs, der Schweineseuche und Schweinepest, für Choleravibrionen und Staphylokokken.

Große Differenzen bestehen demnach nicht nur bei verschiedenen Tieren, sondern auch bei Individuen derselben Art, indem das eine Tier ein Serum besitzt, das verschiedene Mikroorganismen agglutiniert, während das Serum anderer Individuen dieselben Mikroorganismen unbeeinflußt läßt.

KRAUS fand unter sechs untersuchten Ratten eine, deren Blutserum typische Reaktion auf Streptokokken gab, sogar noch 1 : 20. Die Höhe dieser Normalagglutination ist sehr schwankend; GENGOU fand für Milzbrand bei Ratten, Kindern und Neugeborenen 1:20, Pferden 1:30, Ziegen und Meerschweinchen 1:40, Ochsen 1:20, Hunden 1:100, Milzbrand des II. Vaccins wird in noch höherem Maße agglutiniert, vom menschlichen Serum 1:250—350 (LAMBOTTE & MARÉCHAL), auch 1:500. Für Choleravibrionen fand KOLLE Agglutination durch das Serum von Kaninchen 1:20, Esel 1:25, Pferd 1:40, Ziege 1:50; für Dysenteriebacillen fand LENTZ im Normalziegenserum 1:50. HAENDEL im Esel- und Pferdeserum große Mengen für Flexnerbac., geringere für die SHIGAschen Bacillen; SMITH & QUICK fanden bei Pferdeseris konstante Agglutination, für B. coli, auch für Typhusbacillen (1:40), selten in Schafseris; normales Pferdeserum agglutiniert in starken Verdünnungen Paratyphus B und Hogcholera in hohen Verdünnungen (HUBER). Sehr verbreitet sowohl beim Menschen und bei Tieren scheint die Agglutinationsfähigkeit auf Bacterium coli zu sein (KÖHLER, SCHEFFLER), häufig nur 1 : 30, doch auch 1 : 50 (KRAUS), 1:100 (JATTA), 1:300 (GEISSE) und über 1:1000 (KLIENEBERGER). Hohe Werte $A_2 = 200$ und darüber bis 1:700 (vgl. S. 556) wurden im normalen Pferdeserum gegenüber Rotzbacillen und einzelnen choleraähnlichen Vibrionen gefunden.

Relativ hohe Werte für Coli wurden in den zahlreichen Untersuchungen bei Typhuskranken gefunden, die man ebenso wie die Agglutinine eventuell auch anderer Bakterien als „normale“ betrachtete. Wir werden hören, daß diese Auffassung nicht immer zutrifft, immerhin kann es der Fall sein.

BÜRGI hat systematisch 10 verschiedene Normalsera, und zwar vom Menschen, Meerschweinchen, Kaninchen, Hund, Gans, Huhn, Hammel, Ziege, Pferd und Rind gegenüber 19 verschiedenen Bakterienarten untersucht und fand eine allgemeine Gesetzmäßigkeit, indem sich die genannten Sera nach der Stärke der Agglutination in einer Reihe anordnen lassen, die für alle untersuchten Bakterien dieselbe war, und zwar agglutinierten am stärksten das Serum von Rind, dann folgen Pferd, Ziege, Hammel, Huhn, Gans, Hund, Kaninchen, Mensch, Meerschweinchen. MAMLOK LEONTINE bestätigt dies, indem das Serum eines Tieres die verschiedensten Bakterien entweder alle stark, mittelstark oder schwach agglutiniert; die von ihr aufgestellte Reihe lautet: stark: Rind, Pferd, Schwein, Hammel;

mittel: Huhn, Gans, Taube; schwach: Hund, Kaninchen, Mensch, Ratte, Meerschweinchen. Eine Ausnahme würde der Milzbrandbacillus bilden, der vom menschlichen Serum sehr hoch agglutiniert wird (Gengou). Müller, von dem auch eine große Untersuchungsreihe vorliegt, hat bei ein und derselben Tierspecies große individuelle Schwankungen gefunden.

Nach Mamlok wären die individuellen Unterschiede im allgemeinen nicht so bedeutend, womit allerdings manche Zahlen ihrer Tabellen nicht übereinstimmen, wenn auch zugegeben werden muß, daß auch individuell stark resp. schwach agglutinierende Sera dann die verschiedenen Bakterien entsprechend stark oder schwach agglutinieren. Ein absolutes Gesetz ist es aber nicht, denn wie wir weiter sehen, spricht vieles dafür, daß die normalen Agglutinine, sowohl ihr Vorkommen als ihre Menge von den Lebensvorgängen, dem Mikrobismus aller äußeren und inneren Oberflächen, besonders aber Infektionen beeinflußt werden.

Für manche Mikroben scheint normale Agglutination des menschlichen Serums zu fehlen. Das wird ziemlich übereinstimmend angegeben für Pest-, Diphtheriebacillen, Tetanusbacillen (Pferd) und andere.

Eine Erklärung für die mannigfaltigen Unterschiede läßt sich begreiflicherweise nicht geben; doch erscheint die Tatsache sehr beachtenswert, daß das normale Serum von Föten (G. Müller) und von Neugeborenen viel seltener und in viel geringerem Grade Agglutinine besitzt. Grünbaum konnte diesen Unterschied zwischen mütterlichem und kindlichem Serum bereits nachweisen.

Pfaundler fand bei Kindern und Säuglingen keine Agglutination des Serums auf Colibacillen bei 1:10, auch nicht mit konzentriertem Serum, bei älteren Kindern selten bis 1:30. Bei neugeborenen Meerschweinchen finden Kraus & Löw niemals Agglutination auf Bacterium coli, während das Serum alter Tiere noch bei etwa 1:20 wirksam ist. Es ist also diese Coli agglutinierende Eigenschaft des normalen Serums als erworben zu betrachten; naheliegend erscheint es, eine hypothetische Erklärung für diese Tatsache darin zu finden, daß teils physiologisch vom Darme aus, eventuell auch anderwärts, teils infolge bakterieller Infektionen eine Resorption von bakteriellen Substanzen im Laufe des späteren Lebens erfolgt, und ist dies namentlich für Bacterium coli und seine Varietäten leicht möglich. Es sei hierbei an die Befunde Pfaundlers erinnert, der bei allen Säuglingen und auch in fast allen Fällen bei älteren Kindern, welche eine Darmaffektion hatten, Agglutination auf Coli des eigenen Darmes beobachtete.

Klieneberger fand zwar bereits im Serum Neugeborener Agglutinine für verschiedene Colistämme, für einen anderen Stamm allerdings keine, betont aber auch das gegen Coli quantitativ und qualitativ verschiedene Verhalten der Sera Erwachsener (bis zu 1:2560) und bezieht die Zunahme auf Autoimmunisierung.

Es hat daher eine gewisse Berechtigung, daß, da bei Kindern unter sieben Jahren im allgemeinen eine schwächere Agglutinationskraft des Blutes auf pathogene Bakterien besteht, eine vorgefundene Agglutination, z. B. bei Typhuserkrankungen, mehr Bedeutung besitzt als bei älteren Individuen und Erwachsenen. Damit würde es auch naheliegend erscheinen, die bei diesen sich viel häufiger und in höheren Werten findenden Normalagglutinine als erworben zu

betrachten, wie dies für gewisse spezifische Agglutinine bekannt ist. Fälle mit Typhusagglutination = 50 und mehr, welche von einem vor Jahren überstandenen Typhus dauernd geblieben ist (Kassel & Mann, Steinberg usw.). Allerdings haben die neueren Untersuchungen ergeben, daß es sich hier häufig um chronische Bacillenträger handelt, was bei den hohen Werten wie 1:8000 (Leliwa & Schuster, Familie, vor 9 Jahren Typhus überstanden) wohl immer der Fall sein dürfte. Aehnliche Verhältnisse wurden auch bei anderen Infektionen, z. B. Fleischvergiftungen, Maltafieber (auch bei Tieren) beobachtet; vgl. unten S. 526.

Ferner sei erinnert, daß bei manchen Tieren, z. B. Kaninchen, in den Lymphapparaten des Darmes sich konstant Bakterien (Ribbert) finden, ja auch in den meseraischen Drüsen Bakterien gefunden worden sind, und daß von manchen neueren Autoren (Rogosinski, Wrzosek) die von Neisser und Opitz bestrittenen Befunde Nocards vom Bakteriengehalte der Lymphe während der Verdauung wieder bestätigt werden. In dieser Beziehung ist auch die Tatsache interessant, daß die im Pferdedarm gefundenen, Paratyphus B. ähnlichen Bakterien vom normalen Pferdeserum nach Huber in viel höheren Verdünnungen (1:300, 1:600) agglutiniert werden als echte Paratyphusbacillen und Suipestiferstämme.

Bezüglich der großen Differenzen in der Intensität der Reaktion wäre außer den überstandenen Infektionen und dem latenten Mikrobismus als Quelle der Agglutinine noch daran zu erinnern, daß es zweifellos leichtagglutinable Bakterien und Bakterienstämme gibt, wie der I. Vaccinmilzbrand, ferner in den Laboratorien langgezüchtete Typhus-, Choleramikroben usw. Auch Sporen können von Normalserum agglutiniert werden (Halban, Kraus & Löw).

Die normale Agglutination wird, da sie für verschiedene Bakterien besteht, auch als nicht spezifisch bezeichnet. Das ist jedoch in dieser präzisen Form nicht ganz richtig. Es wird allerdings kein Zweifel darüber bestehen, daß ein Choleraagglutinin unter den dermaligen Verhältnissen in Europa nicht spezifisch entstanden sein kann, sondern daß es sich um ein Mitagglutinin handeln wird (vgl. später Abschnitt VI); solange aber das betreffende Hauptagglutinin nicht bekannt ist, verhalten sich solche Mitagglutinine wie Spezialagglutinine; sie sind spezifisch absorbierbar. Bereits Bordet fand, daß bei Eintragung von Choleravibrionen in ein diese und Typhusbacillen agglutinierendes Normalpferdeserum die nach Zentrifugierung abgehobene Flüssigkeit Choleravibrionen nicht mehr agglutinierte, wohl aber noch die Typhusbacillen. In analoger Weise haben auch Eisenberg & Volk die Absorption des normalen Typhusagglutinins durch Typhusbacillen ebenso wie A. Rodet erwiesen. Die spezifische Absorption gilt als Beweis für eine gewisse Unabhängigkeit des vorhandenen Normalagglutinins, das sich damit ähnlich verhält wie die Immunagglutinine.

Bürgi fand, daß normale Sera in demselben Verhältnisse und in derselben Reihe, wie sie verschieden stark agglutinieren, auch in verschiedener Intensität eine Mastixsuspension auszuflocken imstande sind; er und Mamlok nehmen daher eine einheitliche Substanz an, welche die Agglutination der verschiedenen Bakterienarten bewirkt und deren physikalische Beschaffenheit und Menge den Agglutinationstiter des Serums bestimmt. Der Widerspruch gegenüber der Tatsache der

elektiven Absorption (Bordet etc.) wird mit der Annahme der beiden im Agglutinationsvorgang sich abspielenden Phasen (der Bindung des Agglutinins und der davon zunächst unabhängigen Fällung) in der Weise erklärt, daß, wenn auch im Serum für verschiedene Bakterien besondere Substanzen vorhanden sind, deren Bindung erst den Eintritt der Agglutination ermöglicht, die II. Phase, die Fällung und damit auch die Unterschiede im Agglutinationstiter auf gewissen physikalischen Faktoren des Serums beruhen.

Mit der größeren Bedeutung des kolloidalen Zustandes des Serums für die Normalagglutination könnten auch die Beobachtungen über die größere Empfindlichkeit des Normalagglutinins für höhere Temperatur gegenüber dem Immunagglutinin zusammenhängen, welche Rodet der des Alexins vergleicht. Während Immunagglutinine 60—62° C ohne Schädigung ertragen, wird z. B. das Typhusagglutinin des normalen Kaninchenserums bereits bei 50—58° C zerstört (Rodet); ferner die Anschauung von Negrée & Raynaud, daß das Normalserum für verschiedene Bakterien (Microc. melitensis, Staphylococcus, Tetragenes, Pneumococcus) zweierlei Agglutinine enthalte, ein spezifisches, das die Erhitzung auf 56° C verträgt und ein nicht spezifisches, das dabei verschwindet; bei fieberhaften Zuständen ist letzteres vermehrt, daher bei serodiagnostischen Untersuchungen auf einen Coccus das Serum vorher auf 56° C zu erwärmen wäre; so wird die Normalagglutination menschlichen Serums von 1:30 bis 1:50 durch $^1/_2$-stündiges Erhitzen auf 56° C aufgehoben (ausgedehntere Kontrolluntersuchungen, sowie Feststellung, ob die Normalsera hierbei auch die Bindungsfähigkeit im halben Umfange verlieren, fehlen).

Für die Bedeutung einer gewissen physikalischen Beschaffenheit des Serums sprechen die Beobachtungen, welche man mit der Agglutination durch normales Rinderserum gemacht hat. Bail fand, daß die durch Erhitzen auf 56° verloren gegangene Agglutinationskraft des Rinderserums (Zerstörung des Komplements) durch Zusatz von Komplement wieder hervorgerufen werden kann; auf diesen Versuch und ähnliche wie Brauns über die Agglutination von Choleravibrionen durch normales Rinderserum, begründet Bail seine Theorie von einer komplexen Zusammensetzung des Agglutinins, aus einer thermostabilen und einer thermolabilen Komponente, die synergetisch wirken.

Ohne auf diese Frage an dieser Stelle näher einzugehen, sei zunächst hervorgehoben, daß übereinstimmend das normale Rinderserum eine besonders hohe Agglutinationskraft besitzt. Es läßt sich bei unseren dermaligen Kenntnissen durchaus nicht ausschließen, daß dieselbe in einer besonderen physikalischen Beschaffenheit derselben im Sinne Bürgis begründet ist; durch Erhitzen auf 56—62° C wird diese allmählich verändert, so daß sichtbare Agglutination nicht mehr zustande kommt; bei ihrer besonderen Beschaffenheit (Menge?) kann sie aber durch Zusatz eines frischen Serums wiederhergestellt werden und kommt es nun wieder zur Agglutination. Mit dieser Auffassung stimmt überein, daß die Abschwächung durch Erwärmen sowohl bei verschiedenen Rinderseris als auch auf verschiedene Bakterien (entsprechend ihrer jeweils verschiedenen Agglutinabilität) nicht dieselbe ist; so kann bei Erwärmung auf 56° C noch die $2^1/_2$—5-fache Menge der unerhitzt wirksamen Dosis noch agglutinieren, oder die Agglutination tritt nicht in derselben Zeit, sondern erst später auf

(Bail, Späth), schließlich wird bei weiterer Erhitzung die physikalische Beschaffenheit so geändert, daß erst ein Zusatz frischen Serums dieselbe wieder herstellt. Auch die Untersuchungen Tsudas & Späths stimmen überein, daß durch normales Rinderserum agglutinierte Choleravibrionen, resp. Diphtheriebacillen nach einstündiger Digestion bei 43° C agglutinierende Stoffe abgeben, die jedoch nur bei Zusatz von frischem Serum wirksam werden; die Beladung mit diesem durch Digestion erhaltenen normalen Agglutinin des Rinderserums reicht nicht mehr aus, daß die Bakterien durch Salz ausgeflockt werden, sondern es ist noch der Zusatz eines Kolloids notwendig. Wie frisches Serum, so kann auch Peritonealexsudat das durch Erwärmen veränderte Rinderserum wieder aktivieren, doch brauchte Eisenberg hierzu ziemlich große Mengen.

Auch die Untersuchungen von Bordet & Gay sprechen dafür, daß in der Beschaffenheit des Rinderserums eine Besonderheit liegt; sie zeigten, daß sensibilisierte und mit Alexin beladene aber noch nicht hämolysierbare Blutkörperchen durch Rinderserum stark ausgeflockt und hämolysiert werden; sie nannten die Erscheinung Konglutination und beziehen sie auf ein im normalen Rinderserum enthaltenes „colloid de bœuf". Streng übertrug diese Auffassung auch auf Bakterien und wollte im Rinderserum Agglutination (Ausflockung von Typhus- und Choleravibrionen durch frisches wie auf 56° C erhitztes Rinderserum) von der Konglutination (Ausfällung von Diphtherie- oder Tuberkelbacillen erst unter Mitwirkung von Alexin und Sensibilisator, also Zusatz von an sich nicht agglutinierenden Normal- oder Immunampozeptoren und beliebiges Komplement haltenden Serum) trennen. Bail und seine Schüler traten dieser Auffassung nicht mit Unrecht entgegen, negieren die Konglutination als besonderes Phänomen und bezeichnen die Versuche als einen neuen Beweis für die Komplexität der Agglutinine — wenigstens soweit es sich um das normale Rinderserum handelt (Späth).

Die Agglutinine sind, wie sie uns im Blutserum vorliegen, verhältnismäßig sehr resistente Körper, die weder von Licht, noch durch Fäulnis (Bensaude, 10 Tage Fäulnis im Kadaver) beeinflußt werden; sie halten sich daher in der Leiche, vertragen im allgemeinen Temperaturen bis 62° C, ebenso Frieren, ja abnorm tiefe Temperaturen und werden auch durch Trocknen nicht verändert; manche Normalagglutinine, das Tuberkulose- (Romberg) und Pestagglutinin (Kolle), werden bei 56° C zerstört, und Pick fand das Choleraagglutinin empfindlicher gegen hohe Temperaturen (65° C) als das Typhusagglutinin.

Im allgemeinen wird, wie bei anderen Antikörpern, angenommen, daß Normal- und Immunagglutinine identisch sind; v. Wassermann, Scheller, auch Eisenberg halten dafür. Die Angaben Rodets und Negrés über die größere Empfindlichkeit der Normalagglutinine gegen höhere Temperaturen (Zerstörung bei 55° C) wurden bereits angeführt; Landsteiner & Reich führen diese Eigenschaft der Normalagglutinine gegen eine völlige Identifizierung der Normal- und Immunagglutination an. Doch gibt es auch resistente Normalsera. Es wird ferner angeführt, daß Normalagglutinine eine geringere Bindungsfähigkeit (Eisenberg & Volk), eine geringere Avidität besitzen, die sich in stärkerer Dissoziation (Landsteiner & Reich) äußert, auch geringere Verklumpung oder leichtere Wiederaufschwemmung zeigen,

und stärker durch Eiweißkörper (Kasein) absorbierbar sind (Landsteiner & Stankovic für hämagglutinierende Normalsera). Andrejew, der sich bemühte, durch Adsorption und Filtrationsversuche, Erhitzen, Unterschiede zwischen den normalen und immunisatorischen Rotzagglutininen zu finden, erhielt zwar erhebliche Differenzen zwischen einzelnen Seris, doch keine deutlich regelmäßigen zwischen den Seris normaler und rotzkranker Pferde. Derselbe Autor konnte auch bei analogen Versuchen keine prinzipiellen Unterschiede der Normal- und Immunagglutinine für Typhus-, Paratyphus- und Ruhrbacillen feststellen. Bei den Ruhragglutininen glaubt Haendel aus dem verschiedenen Verhalten bei der Absorption nach Castellani, die im Esel- und Pferdeserum vorkommenden Normalagglutinine für Flexnerbacillen von den bei der Immunisierung mit Shiga-Kruse auch beträchtlich vermehrten Mitagglutininen für Flexner, also Immunagglutinine, für verschieden betrachten zu müssen; er kommt daher analog Landsteiner zur Annahme, daß die Normalagglutinine bei der Immunisierung schwinden, was prinzipiell wichtig ist und sich mit den Ergebnissen Bürgis vereinigen ließe (vgl. auch S. 584).

Endlich wäre noch anzuführen, daß Eisenberg, Landsteiner & Calvo das Typhusnormalagglutinin beim Pferde in der Euglobulinfraktion des Serums fanden, während Pick das Immunagglutinin im Pseudoglobulin fand.

Immunagglutinine.

Im allgemeinen hat jede Art der Einverleibung von Bakterien, besonders die intravenöse, subkutane Injektion oder in die serösen Höhlen, sobald es überhaupt zur Resorption von bakteriellen Körpersubstanzen von den Geweben her kommt, die Entwicklung von Agglutininen zur Folge. Man bedient sich auch gemeinhin dieser Wege zur Einverleibung; nach Untersuchungen W. Hoffmanns scheint, obwohl Nobessart & Bicard, neuerdings Landram Mc. Farland keinen Unterschied fanden, die intravenöse Injektion, ähnlich wie für Eiweißpräzipitine und Bakteriolysine (Pfeiffer), die günstige Methode zu sein: intravenöse Injektion ergab A_2 1:5000, intraperitoneale und subkutane eine geringere (1:1000). Rintelen fand Aviditätsunterschiede (S. 586). (Vgl. die Immunisierungsschemata von M. Ficker in diesem Handbuch, II, S. 176ff.). Nach Pfeiffer (Bakteriolysine) dürfte bei lokaler Injektion bereits lokal eine gewisse Absättigung zustande kommen, daher weniger Bakteriensubstanz in die agglutininbildenden Organe transportiert werden. Fornet & Müller empfahlen als Schnellimmunisierungsmethode eine an drei aufeinanderfolgenden Tagen vorzunehmende intraperitoneale Injektion steigender Dosen; Tzuzuki erhielt mit dieser Methode sehr gute Resultate. Hoffmann und nach ihm Kasten konnten auch durch kutane Infektion, Einreibung von Typhus- und Cholerakulturen auf die rasierte Haut von Kaninchen ein agglutinierendes und bakterizides Serum gewinnen, nach Kasten auch mit bei 65^0 abgetöteten Bacillen, wobei sogar das Agglutinationsvermögen größer wird. Diese Versuche zeigen zweifellos, daß minimale Mengen von Bakteriensubstanz zum Entstehen von Agglutininen genügen, nach Stäubli z. B. $^1/_{60}$ Agarkultur, nach Shiga beim Menschen 0,25—0,5 eines Kochsalzauszuges von Typhusbacillen, nach Friedberger & Moreschi die $^1/_{500}$ Oese entsprechende

Menge abgetöteter Bacillen intravenös, eine bemerkenswerte Analogie zu den Präzipitinen, für deren Entstehung nach Obermayer & Pick die Injektion minimaler Mengen (0,06) von Eiweißlösungen genügt. Auch ältere Beobachtungen, wie solche bei den Einimpfungen abgetöteter Choleravibrionen oder Typhusbacillen am Menschen (eine 2-mg-Oese), bei Schutzimpfungen von Pfeiffer & Kolle, von Wright & Semple, von Kraus erhoben worden sind, stimmen bezüglich der reichlichen Agglutininbildung überein, wobei bemerkenswert ist, daß wie bei anderen Immunkörpern (z. B. Bakteriolysinen) keine Beziehung zur injizierten Menge von Bakteriensubstanz besteht, z. B. ob $^1/_{100}$ oder $^1/_{10}$ oder 1 Oese. Es kann aber auch die stomachale oder intrapulmonale Einverleibung von Bakterien zur Bildung von Agglutininen führen. Erstere ist nur wenig wirksam, hat aber anscheinend unter gewissen Verhältnissen (Bakterienart? große Mengen? Infektion?) Erfolg. Während Widal mit Psittakosebacillen, Rodella, Otto & Fränkel mit größeren Mengen von Typhusbacillen, Sicilliano mit lebenden Kulturen, Nicolle & Conseil mit Microc. melit. bei Meerschweinchen Agglutinine erhielten, gelang es Chvostek mit Dysenteriebacillen, Sicilliano mit abgetöteten Kulturen, Löffler mit abgetöteten Mäusetyphusbacillen bei Mäusen nicht, Agglutinine zu erzielen, so daß es fast fraglich ist, ob nicht eine, wenn auch leichte Infektion zum positiven Ergebnis notwendig ist, wie es bei den positiven Versuchen von Chantemesse & Raymond, Remlinger der Fall war; allerdings fehlte bei Otto & Fränkel jeder Schutzwert des Serums, Nicolle & Conseil fanden viel niedrigere Werte als bei subkutaner Injektion. Immerhin sind die Versuche von Petrie & O'Brien bemerkenswert, nach denen Meerschweinchen nach Fütterung mit Bacillen der Fleischvergiftung Aertryck, suipestifer, Bacillen ausscheiden und einen höheren Agglutiningehalt zeigen als normale Tiere, entgegen den Beobachtungen von Zwick & Weichl; nimmt man dazu die ebenfalls gegensätzlichen Beobachtungen beim Menschen von fehlender Agglutination bei Bacillenträgern (z. B. Jürgens bei Typhus, Friedberger bei Cholera) und andererseits die positiven Befunde wie von Bürgers bei Cholera (so daß die Agglutinationsuntersuchung direkt zur Eruierung von Bacillenträgern empfohlen wird [z. B. Eccard, Dennemark]), so scheint es, daß ein Unterschied besteht, ob die per os aufgenommenen resp. verfütterten Bakterien für den betreffenden Organismus intestinal infektiös sind oder nicht und daß das Auftreten von allerdings wenig aviden Agglutininen (s. S. 587) die einzige Reaktion einer erfolgten leichtesten Infektion wäre. Da das Agglutinogen auch sehr rasch durch Pepsin zerstört wird, stünde im allgemeinen das Resultat mit dem Verhalten der präzipitinogenen Substanz in Uebereinstimmung, die nur bei reichlicher Aufnahme per os, z. B. von Hühnereiweiß (Ascoli, Uhlenhuth), zur Präzipitinbildung führt, ähnlich den Versuchen von Otto & Fränkel an Hunden mit reichlicher Fütterung von Typhusbacillen.

Bei der Resorption von Bakterien von seiten der Luftwege hat Jules Rehns das Auftreten von Agglutininen erwiesen. Das Zentrifugat von 25 ccm Typhusbouillonkultur erzeugte, intrapulmonal injiziert, in 10 Tagen Agglutinine 1:250—1:600.

Da das Agglutinogen mit der Zeit semipermeable Membranen und Kolloidiummembranen passiert somit dialysierbar ist, so gelingt die

Bildung von Agglutininen auch durch Einbringen von mit Kulturen (Typhusbacillen) gefüllten Kolloidiumsäckchen in die Bauchhöhle von (Meerschweinchen (Mc Crae, D'Espine & Mallet, nach 19—21 Tagen Werte von 1:1000); nach Entfernung der Säckchen schwindet das Agglutinin.

Auch bei Kaltblütern kommt es, und zwar ganz unabhängig von einer Empfänglichkeit des Tieres für die Bakterien (nach Widal & Sicard nach subkutaner Injektion von Typhusbacillen) zur Bildung von Agglutininen. Dabei hat die Größe der Dosis mehr Bedeutung als beim Meerschweinchen und Kaninchen. Der Frosch produziert Agglutinin am besten bei Temperaturen von 27—33° C, aber auch bei 21—23°; bei 12—14° treten dieselben nur sehr langsam und in geringer Menge auf; bei Schildkröten nach starken Dosen von Typhusbacillen bei 30—37° nach 14 Tagen, beim Krokodil erst nach 18 Tagen.

Bekanntlich erzeugen nicht allein lebende Mikroben, sondern auch abgetötete (zuerst von Widal, Durham [Chloroform abgetötet oder bei 60° C], Chantemesse, Förster angegeben, jetzt zur Methode geworden), aufgelöste (Antiformin), und trocken auf 120° C erhitzte Bakterien (Löffler, Friedberger & Moreschi), Sporen (Defalle, Levaditi), ferner auch filtrierte Kulturen (Widal, Chantemesse, Levy & Bruns, Winterberg, Valagussa, Orlowski) oder Auszüge von Bakterien, die Kochsalzextrakte Picks, von Neisser & Shiga, alkoholische von Rodet & Lagriffoul, Ammonsulfatniederschläge (Brieger & Schütze, Brieger & Mayer, Agglutinine (vgl. Ficker, dieses Handbuch). Namentlich bei den letztangeführten Versuchen, wie auch bei denen von Neisser & Shiga, gelang es in kurzer Zeit (8 Tage), ein hochagglutinierendes Serum zu gewinnen. Eine Förderung erklärt die Agglutininproduktion, wie die Untersuchungen von Rolly & Meltzer, Lüdke zeigten, durch höhere Temperatur, sei es durch vermehrte Wärmezufuhr von außen, oder Steigerung der Körpertemperatur durch den Wärmestich, oder infolge Injektion von Albumosen (Fiebertemperaturen). Die Agglutinine werden bei solchen Tieren schneller und in größeren Mengen produziert als bei den kühl gehaltenen Kontrolltieren. Andere Aenderungen des Stoffwechsels (P. Th. Müller) wie durch Hunger, Art der Ernährung, Alkohol haben bald einen fördernden, bald einen hemmenden Einfluß auf die Agglutininbildung; Trommsdorff fand kleine Alkoholdosen, Müller namentlich das Hetol (zimtsaures Natrium) von förderndem Einflusse. — Nach Graziani begünstigt auch eine niedere Umgebungstemperatur von +2 und +3° die Bildung der Agglutinine, und Fukuhara fand eine vorübergehende Zunahme des Agglutiningehaltes nach mäßiger Abkühlung.

Die Resultate sind übrigens bei demselben Tiere unter der Einwirkung eines Agens nicht immer gleichsinnig; so sah P. Th. Müller bei Tauben, daß durch den Hunger die Agglutininbildung für Typhusbacillen und Pyocyaneusbacillen gesteigert, für B. dysent., Vibrio Metschnikoff und Proteus herabgesetzt wird und Collins fand, daß die Injektion gewisser Substanzen (Enzyme, wie Brauereihefe, Diastase, Pankreatin, ferner Nuklein, Aleuronat, S und P haltender anorganischer Salze) den Agglutinationswert des Serums für Flexnerbacillen herabdrückte, während der Effekt für Typhusbacillen und andere Bakterien geringer war. Melnikowa & Wersilowa haben eine Förderung der Agglutininproduktion auf Injektion von Nuklein, Levaditi auf eine solche von Salzlösungen (phosphorsaures Natrium) beobachtet. Wir werden nicht fehl gehen, wenn wir in einem gewissen Reize und umgekehrt für vermehrte resp. herabgesetzte Zelltätigkeit die Ursache der Förderung resp. Hemmung der Agglutininproduktion durch

gewisse Maßnahmen wie Fiebertemperaturen oder gewisse Substanzen wie das Hetol suchen.

Nach mehrfachen Angaben hat auch der Charakter der jeweilig verwendeten Kulturen einen Einfluß auf die Agglutininbildung und die agglutinierende Kraft des Serums, was damit zusammenhängt, daß weder diese noch die Agglutinabilität eines Bakterienstammes absolute Werte sind. Für letztere ist die Beschaffenheit der Bakterienproteine von großer Bedeutung (Porges, vgl. S. 503, 569), womit sich wohl die älteren Angaben von Jules Rehns, Klinger erklären, daß wenig agglutinable Typhusbacillen ein den immunisierenden Stamm weniger agglutinierendes, auf andere Stämme sehr wirksames Serum erzeugen (1:4000, andere Stämme 1:20000). Abgesehen davon haben aber verschiedene Kulturen zusammen mit der Art und Individualität des Tieres noch Einfluß auf die Beschaffenheit des Serums, namentlich auch der sogenannten Mitagglutinine. Vielfach wurde auch beobachtet, daß virulentere Kulturen besser Agglutinine bilden als ganz avirulente (Pfeiffer, Kolle bei Cholera, eigene Beobachtung bei Pest usw.). Doch ist diese Tatsache nicht durchgreifend, aber sie ist wichtig; sie könnte mit einer gewissen, die Zelltätigkeit steigernden Reizwirkung zusammenhängen (Wassermann).

Die Agglutinationskraft eines Serums kann sehr bedeutend werden: 1:1000000 für Typhusbacillen (van de Velde), 1:2000000 für Colibacillen (Durham).

Die Agglutinine erscheinen im Blute der Warmblüter im allgemeinen in 3—4—6 Tagen, auch erst nach 8—10 Tagen nach der ersten Injektion (bei Kaltblütern entsprechend dem trägeren Stoffwechsel nach 14 Tagen und später), Widal & Sicard geben 3 Tage, Levy & Bruns $3^1/_2$ Tage an, ebenso Fodor & Rigler, Deutsch konnte zum mindestens nach 3—4 Tagen, Jatta, Gaehtgens, Fukuhara bereits nach 2 Tagen und van Emden ebenfalls am 2. Tage bereits Agglutinine nachweisen.

Nach einer verschieden langen Inkubation können dieselben auch ganz plötzlich blitzartig auftreten (1:40) oder allmählich ansteigend. Die Inkubation für das Entstehen der Agglutinine erklärt zum Teil ihr verschiedenes Verhalten bei menschlichen Erkrankungen, abgesehen davon, daß namentlich schwere Infektionen zu keiner Agglutininbildung führen (vgl. S. 513); so ist dies auch bei sehr akut verlaufenden der Fall; die lange Inkubation beim Typhus, die kurze bei Cholera, Pest erklärt das ganz verschiedene Auftreten der Agglutination bei ersterem schon in den ersten Tagen der Erkrankung, bei den anderen erst in der Rekonvaleszenz resp. am 9.—10. Tage der Erkrankung. Jörgensen & Madsen (Immunisierung mit Typhusbacillen oder Choleravibrionen), Levin (Colibacillen) unterscheiden an der Kurve, die nach dem jeweiligen Gehalte an Agglutinin konstruierbar ist, 4 Phasen:

1. Phase 1—3 Tage nach der Injektion, in welcher sich kein Agglutinin oder eine Verminderung etwaigen normalen findet, 2. Phase 3—6 Tage mit raschem Anstieg des Agglutiningehaltes, so daß das Maximum gegen den 7.—13. Tag post injectionem, nach Levin erst am 17. Tage zur Erscheinung kommt. Eine 3. Phase des Abfalls, zuerst rapid, dann aber 4. ein Zustand gleichmäßiger Höhe oder langsamen Abfalls. Deutsch betont das Bestehen großer individueller Schwankungen. Nach Stäubli findet die Zunahme des Agglutinins

(Typhusagglutinin bei Meerschweinchen) nicht nach einfachen Proportionen statt, sondern nach Potenzen, in derselben Zeiteinheit, z. B. von 100 auf 200, so daß, wenn in der ersten Zeiteinheit der Wert 25 ist, derselbe in sechs Zeiteinheiten bereits 800 beträgt; dabei bleibt die relative Zunahmeenergie ungefähr konstant.

Die Agglutinine können sich im Organismus verschieden lang halten; Gruber gab bereits an, daß bei 7—13 Monate vorher immunisierten Tieren noch Agglutinine im Blutserum, in der Peritoneallymphe vorhanden waren; seit Widal bei Typhusrekonvaleszenten noch nach 6–8 Monaten, nach älteren Beobachtungen Weinberg, Kassel & Mann, Fränkel & Steinberg und zahlreiche neuere Autoren, noch Jahre nach überstandenem Typhus Agglutinin fanden, ist das eine allgemein bekannte Tatsache; Leliwa & Schuster fanden nach 9 Jahren noch den hohen Titer auf 1:8000; für so langen und so hohen Agglutiningehalt dürfte es wohl nicht zweifelhaft sein, daß er durch Daueransiedelungen der Typhusbacillen, vermutlich in der Gallenblase, veranlaßt ist, worauf schon Mac Crae aufmerksam gemacht hat und wofür auch durch die Obduktion erwiesene Befunde vorliegen (Levy & Kayser, Nieter & Liefmann). Nach Köhler, Tobiesen zeigen nur wenige Fälle noch nach einem Jahre die Reaktion; nach den Angaben Klingers würden 1,7 Proz., nach Schneider 3 Proz. aller Typhusrekonvaleszenten Dauerausscheider werden. Für ein länger anhaltendes Bestehen der Agglutinine bei ausgeschlossener latenter Infektion sprechen die Beobachtungen nach Schutzimpfungen mit abgetöteten Kulturen; so fand Wright noch 2 Jahre nachher Agglutinationskraft des Serums, Leishman 1:2000; für das differente Verhalten wäre an Vorgänge im Stoffwechsel zu denken, durch welche die Sekretion der Agglutinine unterhalten wird, eventuell auch andere Infektionen als derartige Reize, woran nach der gegenseitigen Wirkung aufeinanderfolgender Immunisierungen (Vernay) zu denken wäre; dazu sei noch erwähnt, daß selbst verschwundene Agglutininbildung wieder hervorgerufen werden kann (durch Hetol Dieudonné). Andererseits kann nach raschem Verschwinden selbst die neuerliche Einfuhr agglutinogener Substanz ohne Effekt bleiben (z. B. Brieger & Mayer); ob ein anderer Abbau der agglutinogenen Substanz oder eine Erschöpfung der Zelltätigkeit hierbei die Ursache ist, erscheint nicht eruiert. Analog wie nach Typhus können auch nach überstandenem Paratyphus, Enteritis, auch Maltafieber (Eyre, Lagrifoul & Roger, auch bei Ziegen und Schafen, Dubois) eventuell anderen Infektionen hohe Agglutininwerte erhalten bleiben; ist dieselbe katamnestisch nicht mehr zu erheben, so können sie wie hohe Normalagglutinine diagnostische Irrtümer veranlassen.

Im Gegensatz zur langen Persistenz der aktiv im Organismus entstandenen Agglutinine halten sich die künstlich übertragenen nur kurze Zeit; nach Jörgensen & Madsen verschwinden dieselben erst rasch, dann langsamer, Grünbaum fand das Maximum 3 Stunden post inj.; homologe Agglutinine halten sich etwas länger. Kopp fand bei Cholerakranken, denen Schurupowsches Choleraserum 1:10000 injiziert worden war, Agglutination bis 1:100, die in elf Tagen verschwunden war. Nach Kraus & Joachim sind bereits nach 1 Stunde große Verluste, Abnahme um 2400–7000 Agglutinineinheiten zu verzeichnen; die Autoren nehmen an, daß es, wie das Antitoxin, von den Organen zurückgehalten werde; nach Becht &

Greer geht es zunächst sehr rasch in die Lymphe (Höhepunkt $4^1/_2$ Stunden post inj.), nicht in die Pericardialflüssigkeit.

Die zahlreichen Untersuchungen bei Typhus ergaben bezüglich Zeit des Auftretens, Höhe und Dauer der Agglutinationskraft außerordentliche Verschiedenheiten: Auftreten der Reaktion am 3. oder 4. Krankheitstage und erst nach 3 Wochen (Stern) oder in der 6. Woche (Kreissel), auch ein stark wechselndes Verhalten in der Höhe, wenn auch im allgemeinen ein Ansteigen bis zu einem Maximum in der Zeit nach dem Fieberfall, in der Rekonvaleszenz und dann allmähliches Absinken den Typus darstellt: Ansteigen der Agglutinationskurve bei Sinken der Temperatur. Es wurde bereits erwähnt, daß Courmont in der Höhe und im Verlauf der Agglutinationskurve mit Temperatur und den anderen Symptomen beim Typhus gewisse Beziehungen findet, die prognostisch verwertbar wären (Seroprognostik). Sie können aber auch vollständig fehlen, ja Gaehtgens[6] konnte in 140 Fällen negativer Agglutinationsprobe 853mal = 60,7 Proz. Typhusbacillen im Blute nachweisen; freilich handelt es sich da um einmalige Untersuchung und können die Agglutinine auch noch nicht entstanden sein, oder schwerere Erkrankungen vorgelegen sein, was beides mit dem hohen Prozentzatz positiven Bacillennachweises im Blute in Uebereinstimmung stehen würde. Pamart stellte durch täglich an 2 Typhuskranken bestimmte Agglutinationswerte außerordentliche Schwankungen innerhalb 24 Stunden fest, z. B. von 100 auf 1500, von 700 auf 20, um innerhalb zweier Tage wieder auf 600 anzusteigen; bei geringem Gehalte an Agglutinin kann dasselbe auch zeitweise vollständig verschwinden, Tatsachen, welche bei der praktischen Verwertung der Agglutination zu berücksichtigen sind. Fränkel & Otto machten bei ihren Tieren Blutverluste, Eiterungen für ähnliche starke Schwankungen verantwortlich. Auch bei Dysenterie (Vedder & Duval), Maltafieber (Birt & Lamb) wurden rasche und plötzliche Schwankungen gefunden, bei letzterem Sinken einer ziemlich bedeutenden Agglutinationskraft unmittelbar vor einem neuerlichen Fieberanfall beobachtet. Es läge nahe, dieses Absinken mit der Absorption von seiten reichlich zur Entwicklung gekommener Bakterien in Beziehung zu bringen, analog P. Th. Müller in Tierversuchen und v. Dungern für Majaplasma; Jörgensen & Madsen geben an, daß der Abfall der Kurve nach neuerlicher Injektion fehlt oder kaum ausgesprochen ist; auch Untersuchungen Stäublis ergeben kein abnormes Sinken des Agglutinins direkt nach den Injektionen der Bakterien, so daß sich für die Agglutinine nicht die Wellenbewegung der Kurve nachweisen ließ, wie sie für die Antitoxine nach Injektion von Toxinen von Brieger & Ehrlich, von Salomonsen & Madsen u. a. gefunden worden ist.

Normal- und Immunagglutinine finden sich außer im Blute, in der Lymphe (Broude & Carlson), aber immer in geringerer Menge als im Blute, in den Flüssigkeiten der serösen Höhlen (Achard & Bensaude, P. Courmont, Levy & Gissler, Rosenberg), in der Thorax- und Halslymphe (Becht & Greer), in der Oedemflüssigkeit von mit Cholera- und Typhusbacillen behandelten Kaninchen (Shimodaira), in den Auszügen blutleerer Organe, aber immer sowohl nach den Beobachtungen beim Menschen (Widal & Sicard, Courmont usw.), als bei Tierversuchen in viel geringerer Menge als im Blutserum, bei Tuberkulose will P. Courmont in pleuritischem Exsu-

dat mehr Agglutinin gefunden haben. Broude & Carlson fanden verschiedene Lymphagoga ohne Einfluß auf die relative Konzentration der Agglutinine im Serum und in der Lymphe. Vollständiges Fehlen (Menetrier) in einem pleuritischen Exsudate bei Anwesenheit von Typhusbacillen bei positivem Blutbefunde bezieht Courmont auf eingetretene Absorption des Agglutinins durch die Bacillen. Reichlich findet sich Agglutinin in der Flüssigkeit von Vesikatorblasen, im Humor aqueus; in der Cerebrospinalflüssigkeit können dieselben fehlen (Becht & Greer); doch finden sie sich immer bei immunisierten Tieren (Broude & Carlson), auch bei nicht sehr hohem Agglutiningehalt des Blutserums. Der Inhalt von Vesikatorblasen wurde auch zur Vornahme der Widalschen Probe verwendet (Urban, Hofmann, Pollaci, Maltafieber). Bei Ligatur der Ureteren steigt der Agglutiningehalt der Transsudate (Rosenberg).

Uebergang der Agglutinine von der Mutter auf den Fötus. Derselbe erfolgt nicht regelmäßig.

Schuhmacher fand, während bei 41 gesunden Wöchnerinnen das Blut 1:10 oder mehr Typhusbacillen agglutinierte, nur bei 7 Kindern Agglutination 1:10. Widal & Sicard verzeichnen bei Kaninchen mit Typhusinfektion, Achard bei Meerschweinchen mit Proteus und Choleravibrionen teilweise, Dieudonné bei choleraimmunisierten Meerschweinchen positive Beobachtungen, Remlinger nur dann, wenn die Immunisierung während der Tragzeit durchgeführt wurde. Gengou sah bei einer Ziege mit Milzbrand-Agglutination 1:400 keinen Uebergang. Jurewitsch fand bei 31 Fällen bei Meerschweinchen in dreien gar keine Agglutinine im Fötus; in den positiven Fällen immer hohen Agglutiningehalt im Serum der Mutter, bei den Föten viel schwächer, nach Jurewitsch bei 25 Würfen im Durchschnitte 10mal schwächer; die Agglutinine verschwinden bei den Jungen nach den meisten Beobachtungen sehr bald. Beim Menschen ergeben sich widersprechende Beobachtungen: Etienne, Fötus einer an Typhus verstorbenen Mutter negativ; Jehle, 5-monatlicher Fötus, Mutter 3. Krankheitswoche eines Typhus, Charrier & Apert, 3—4-monatlicher Fötus Stengel, Kind während Typhuserkrankung geboren, Kirton, 6-monatlicher Fötus und reifes Kind, sämtlich negativ, Mütter positiv: Stählein, normale Geburt 33 Tage nach der Erkrankung, Uterusblut 1:20 komplett, Nabelvenenblut negativ; Shaw, Mutter Typhus überüberstanden, 4 Monate später reifes Kind, Bolton, Frau 3. Monat der Schwangerschaft, Blut 1:20 positiv, Fötus negativ, keine Typhusbacillen, Frau 8. Monat der Gravidität, Geburt in der 3. Krankheitswoche, Kind negativ, analog Schütttrumpf, Placentarblut 1 : 150, Frucht negativ; Gaehtgens, 4. Monat gravide Frau abortiert, Fötus enthält Typhusbacillen, Serum 1:50 negativ; Kassel & Man, Typhuserkrankung vor Jahren, mütterliches Serum 1:50, kindliches negativ. Rava beobachtete 5 Fälle von Typhus während der Schwangerschaft, 2mal Abortus im 4. und 5. Monat, Fötalblut nur geringe Agglutination, Mutter 1:100—1:600. Diesen zahlreichen negativen Fällen stehen einige positive gegenüber, so Mosse & Daunic, Geburt 3 Monate nach dem Fieber, mütterliches Blut agglutiniert 1:20, kindliches 1:1; Mahrt, Frau am Ende der Schwangerschaft erkrankt, A_2—10; Kirton, ausgetragenes Kind; Chambrelent & Saint Philippe, frühgeborenes Kind; Griffith, 7 Wochen altes Kind einer Mutter, die an Typhus erkrankt; Bolton, Geburt am 25. Krankheitstage, Mutter 1:40, Fötus 1:20, enthält in den Organen Typhusbacillen; Jehle, Mutter in der 3. Krankheitswoche 1:100, Fötus 1:30, keine Bacillen; Scholz, Frühgeburt 1:250, bakteriologisch nicht untersucht; Zängerle, Geburt in der 3. Krankheitswoche, gesundes Kind, 1:30 positiv wie das mütterliche Serum, nach einigen Monaten an Varicellen gestorben; Rava, Mutter im 7. Monat Typhus überstanden, Serum des Kindes bei der Geburt 1:30, der Mutter 1:60 positiv; de Sandro & Tria, Mutter vor 7 Monaten Typhus überstanden, Blut des Neugeborenen 1:70, der Mutter 1:300 positiv; Etienne, Fötus einer an Typhus verstorbenen Frau hatte höhere Agglutinationskraft 1:200 als das Herzblut der Mutter 1:150, auch die Amnionsflüssigkeit 1:200 positiv, keine Bacillen. Letzterer Fall wurde vom Autor dahin gedeutet, daß nicht ein Uebergang der Agglutinine von der Mutter bestand, sondern daß der Fötus Agglutinine selbständig gebildet hat; Lagriffoul & Pages fanden in ähnlicher Weise bei einem Neugeborenen einer phthisischen Mutter Agglutination für Tuberkelbacillen 1:10 gegen 1:5

im mütterlichen Serum. BOLTON ist geneigt, die Agglutininbildung des Fötus auf Infektion desselben zurückzuführen, womit die positiven experimentellen Ergebnisse WIDALs bei Kaninchen, Mutter vor 6 Tagen geimpft, und REMLINGERS, Immunisierung während der Tragzeit, übereinstimmen würden.

Da die Agglutinationsfähigkeit des kindlichen Blutes häufig nur auftritt, wenn die Typhuserkrankung erst in der letzten Zeit der Schwangerschaft bestand, so kann man daran denken, daß die Agglutinine infolge Infektion (BOLTON) der Frucht oder infolge Ueberganges agglutinogener Substanz auf die Frucht selbständig entstehen (Fall ETIENNE); wie die Infektion der Frucht zustande kommen kann oder nicht, resp. heilen kann, ebenso unbestimmt verhalten sich die Agglutinine; beide Erscheinungen könnten parallel gehen. Gegen diese Annahme spricht allerdings, daß in einem Teil der Fälle beim Menschen und auch bei den Tierexperimenten die Agglutinine des Jungen rasch geschwunden sind, also nicht autonom gebildet waren. Die obige Annahme würde eine Unterstützung finden in dem von HALBAN & LANDSTEINER konstatierten autonomen Verhalten des kindlichen Blutes gegenüber dem mütterlichen Blute.

RAVA machte folgende Beobachtung: Wird ein Gemenge von mütterlichem Blut 1:200 mit Placentarblut 1:10 zusammen gebracht, so verhält sich das Serum wie Placentarblut; er macht daraus die Annahme, daß das Blut der Placenta von typhuskranken Frauen vor dem 6. Schwangerschaftsmonate Substanzen enthält, die das Typhusagglutinin des mütterlichen Organismus zu neutralisieren imstande sind. (Aenderung des kolloidalen Zustandes.)

Zweifellos ergibt sich ein Uebertritt von Agglutininen aus dem mütterlichen Organismus auf die Frucht aus den Versuchen, in welchen agglutinierende Sera den trächtigen Weibchen injiziert wurden; JUREWITSCH fand in 9 Fällen konstant in den Früchten ebenfalls Agglutinin, welches ganz analog wie in den Fällen, wo die Mütter mit Typhusbacillen infiziert worden waren, rasch verschwand. Auch STÄUBLI kommt nach neueren Untersuchungen am Meerschweinchen zum Schlusse, daß Typhusagglutinin, wenn es nicht zu kurz vor der Geburt einverleibt wird, stets durch die Placenta und passiv auf die Jungen übertragen wird.

Die Art der Ausscheidung der Agglutinine, die Ursache ihres Verschwindens sind noch unbekannt. COURMONT vermutet, daß Leber und Milz Agglutinine zerstören, indem das Blut der abführenden Gefäße dieser Organe ca. 15mal weniger Agglutinin enthält als das einströmende. Die Angabe über ihre Ausscheidung im Harn (WIDAL & SICARD, BORMANS) erscheint sehr zweifelhaft, indem in diesen Fällen erst bei gleichen Mengen Harn die Reaktion nach einigen Stunden bei Bruttemperatur auftritt und die Möglichkeit einer Scheinagglutination nicht abzuweisen ist. Es wurden auch im Harn bei Untersuchungen von Typhuskranken (PEISER, 25 Fälle, JAMES LEVY & GIESSLER, 10 Fälle, so auch in experimentellen Untersuchungen STÄUBLIS) Agglutinine nicht nachgewiesen. CHAIRNS & WENHARDT geben an, daß der Urin Pestrekonvaleszenter ebenso wie das Blut agglutiniere, eine Angabe, welche durch andere Untersuchungen nicht bestätigt wurde (Beimengung von Blut?). CHIRAY & SARTORY fanden auch bei vorhandenem Eiweiß keine Agglutinine.

Ueber den Gehalt der Galle an Agglutininen wäre zunächst zu bemerken, daß dieselbe sowie taurocholsaures Natron manchmal nicht spezifisch agglutinieren kann (chemische Agglutination, KÖHLER); über den Gehalt an spezifischem Agglutinin liegen widersprechende

Beobachtungen vor. Während Centanni (gegen Typhus und Coli immunisierte Tiere) die Galle ziemlich stark agglutinierend fand, ist dies nach Venema nicht der Fall; Stäubli sah einen ganz geringen Gehalt von 1:5, eine Andeutung, während das Serum noch bei 1:12500 wirksam war. In einem Falle war Galle in der Verdünnung 1:50 wirksam, da war aber das Tier 6 Stunden nach dem Tode gelegen. Stäubli macht darauf aufmerksam, daß, namentlich bei hohem Gehalt des Blutes an Agglutininen, die Beimengung minimaler Blutmengen bereits einen geringen Agglutiningehalt vortäuschen kann; daher ist bei Leichenuntersuchungen ein sehr vorsichtiges Gebahren notwendig.

Im Tränensekret fand Schultz bei Typhuskranken Agglutination bis 1:275, Stäubli erst auf Pilokarpin 1:10 bei 1:25000 im Blutserum. Auch der Gehalt des Speichels ist sehr gering, aber doch etwas erheblicher; in denselben Untersuchungen wurde solcher in Verdünnungen von 1:20—1:50, bei Blutserum von 1:10000 und 1:25000 wirksam gefunden. Im Fruchtwasser fanden sich nur geringe Andeutungen bei hoher Konzentration, so daß auch dieser Gehalt nicht unbedingt angenommen werden kann, weil durch Beimischung minimaler Quantitäten Blut die Wirkung vorgetäuscht sein kann. Anzuführen wäre noch, daß nach Stäubli der Mangel an Agglutininen in den Se- und Exkreten nicht darauf zurückzuführen ist, daß die Agglutinine durch dieselben irgendwie modifiziert oder zerstört würden.

Sehr beträchtlich ist der Gehalt der Milch an Agglutinin.

In derselben haben Achard & Bensaude (1896), ferner Thiercelin & Lenoble zuerst bei Wöchnerinnen, die an Typhus erkrankt waren, R. Kraus (1896) bei immunisierten Ziegen (Typhusbacillen, Choleravibrionen und Bacterium coli) den Gehalt an Agglutininen nachgewiesen. R. Kraus konstatierte das Verhältnis des Agglutiningehaltes im Blutserum zu dem der Milch zu etwa 1:10, Rodella bei Meerschweinchen (Proteus vulgaris) ähnlich: Blutserum 1:600 respektive 1:100, Milch 1:60, bei anderen Tieren allerdings 1:40. Kraus konstatierte bereits bei einer Ziege den Agglutinininhalt der Milch als ein Fünftel des im Serum vorhandenen und bezog den hohen Wert auf die Konzentration, da das Tier nur wenig Milch gab. Castaigne fand bei einer Frau, mehrere Wochen nach der Entbindung an Typhus erkrankt, im Blutserum einen Agglutinationswert 1:1200, für die Milch 1:600, P. Courmont & Cade 1:200 für das Blutserum, 1:30 für die Milch. Schuhmacher fand bei einer Frau, die vier Wochen nach einer Typhuserkrankung niedergekommen war, im Blutserum und in der Milch denselben Wert von 1:400. Gleich nach der Geburt kann der Agglutinationsgehalt der Milch den des Serums sogar beträchtlich überragen; so fand Stäubli bei Meerschweinchen neben demselben Gehalt in Blutserum und Milch 1:16000, eine Steigerung auf das 7—15-fache: in der Milch 1:100000, im Blutserum 1:12800 respektive 6400; bei einem trächtigen, vor längerer Zeit immunisierten Tiere, als die Drüsenfunktion wieder einsetzte, fand sich gar der mehr als 25-fache Wert: Milch 1:12800, während im Serum nur mehr 1:400 vorhanden war.

Dieser hohe Agglutiningehalt des Kolostrums könnte zur Annahme führen, daß die Milchdrüse sich aktiv an der Agglutininbildung beteilige (Stäubli). Auch in Fällen, wo sich ein geringer Agglutinationswert im Blutserum nach einer vor Jahren überstandenen Typhuserkrankung erhalten hatte, fanden sich Agglutinine in der Milch. Kasel & Man untersuchten drei Fälle; in einem, Erkrankung vor 15 Jahren, fand sich für Blutserum und Milch derselbe Wert von 1:50, in einem anderen, Erkrankung vor einem Jahre, Blutserum 1:25, Milch 1:12. Im allgemeinen ist nach dem vorliegenden

Materiale der Gehalt der Milch an Agglutininen meist sehr hoch (STÄUBLI) und scheint höher zu sein als an Antitoxinen, bei denen EHRLICH das Verhältnis zwischen Milch und Blutserum wie 1:15, 1:20 und 1:30 fand. Die Steigerung des Antitoxingehaltes in der Milch bei der Geburt ist aber auch da beobachtet (DZIERGOWSKI).

Den Uebergang der Milchagglutinine auf den Säugling haben WIDAL & SICARD bei den EHRLICHschen Versuchen analogen an Mäusen erwiesen; bei Meerschweinchen und Kaninchen gelang es weder ihnen, noch REMLINGER, STÄUBLI (auch nicht in neueren Versuchen), DIEUDONNÉ, einen solchen Uebergang nachzuweisen.

Analog negativ lauten auch einige Beobachtungen beim Menschen (Typhusagglutinin), doch gibt es auch positive Befunde: THIERCELIN & LENOBLE, ACHARD & BENSAUDE, CASTAIGNE (I. Observatio), KASEL & MAN; COURMONT glaubt, daß der geringe Gehalt der Milch an Agglutinin der Grund sei, daß keine Uebertragung stattfand. Ein anderes Mal vermutet er in der Wirkung des Verdauungssaftes eine Zerstörung des Agglutinins; in analoger Weise nimmt CASTAIGNE dyspeptische Zustände für die Fälle an, bei welchen eine Resorption des Agglutinins aus der Milch stattgefunden hat. Positiv lauten die Beobachtungen: P. COURMONT & CADE, Frau, die seit zwei Monaten ihr Kind stillt, erkrankt an Typhus und stillt weiter; Agglutination des mütterlichen Serums 1:200, der Milch 1:30, des kindlichen Serums 1:10, das Kind wird künstlich ernährt, worauf die Agglutinationskraft verschwindet; LANDOUZY & GRIFFON, Frau, die nach der Geburt an Typhus erkrankt, stillt das Kind, dieses zeigt positive WIDALsche Reaktion; analog ist der zweite Fall CASTAIGNEs, wo auch bei der typhuskranken Mutter und beim Säugling positive WIDALsche Reaktion sich fand, die beim Säugling verschwand, als die Milch kein Agglutinin mehr enthielt. A_2 der Mutter = 1200, A_2 der Milch = 600. MAHRT: die typhuskranke Mutter gebärt ein Kind, dessen Serum A_2 = 10, stillt dasselbe gegen den ärztlichen Rat; das Kind hat nach 12 Tagen A_2 = 40, die Milch A_2 = 30; das Kind fieberfrei.

Es ist auffallend, daß in allen positiven Fällen die Typhuserkrankung während der Zeit des Stillens bestand; wenn die Typhuserkrankung früher abgelaufen war, so kam es trotz Agglutiningehalt der Milch zu keinem Uebergang der Agglutinine auf das Kind. Die Widersprüche in den experimentellen Ergebnissen bei Mäusen und andererseits bei Meerschweinchen und Kaninchen sind einstweilen nicht zu erklären; auch die verschiedenen Beobachtungen beim Menschen lassen sich nicht einheitlich erklären (zu geringer Agglutiningehalt der Milch oder dyspeptische Zustände beim Kinde nach COURMONT & CASTAIGNE); die Tatsache, daß besonders bei Typhuserkrankung während der Säugung die Agglutinine im Säugling auftreten, läßt daran denken, daß mit der Milch gleichzeitig ausgeschiedene Bacillen oder agglutinogene Substanzen übertragen wurden. Allerdings wurde auch hier beobachtet, daß das Agglutinin des Säuglings in kurzer Zeit nach dem Schwinden des Agglutinins der Milch verschwindet.

Unsere Kenntnisse über die Entstehung der Agglutinine sind noch recht mangelhaft; es steht nur fest, daß sie nicht an der Injektionsstelle der Mikroben, sondern immer zuerst in größerer Menge im Blute erscheinen; so wurden keine Agglutinine im subkutanen Exsudate der Injektionsstelle, wenn solche auch im Blute vorhanden waren, gefunden (z. B. Pestbacillen). Bereits Untersuchungen von ACHARD, ARLOING, ferner REHNS, NOBÉCOURT & BIGART konstatierten das erste Auftreten der Agglutinine im Blute. Weil in der leukocytenhaltigen Peritonealhöhle keine Agglutinine entstehen, auch die Leukocytenextrakte keine enthalten, so wird die Beteiligung

der Leukocyten vielfach abgelehnt (Widal & Sicard, Achard & Bensaude, P. Courmont, Gengou, Nobécourt usw.), wogegen Dreyer & Walker (vgl. unten) letzteren eine Bedeutung zuschreiben. Gruber nahm eine Beteiligung der Leukocyten an, indem sie es sind, welche die Körpersubstanzen der Bakterien aufnehmen und von den Makrophagen aufgenommen in die Gewebe gebracht werden, die die Agglutinine bilden. Nach Landram Mac Farland fällt das Maximum des Agglutinins mit dem Minimum der vorher vermehrt gewesenen Leukocyten zusammen (Coliinfektion), welches Verhältnis bei fortgesetzter Immunisierung verschwindet.

Die Untersuchungen van Emdens über die Bildungsstätte der Agglutinine des B. aërogenes (in Anlehnung an die bekannten Untersuchungen von Pfeiffer & Marx, A. Wassermann) ergaben keine konstanten Resultate, doch war in einzelnen Versuchen auch hier im Gewebesaft der Milz (von Jatta bestätigt), auch in Lymphdrüsen und im Knochenmark früher und mehr Agglutinin nachzuweisen als im Blutserum; Deutsch dagegen fand Agglutinine immer im Blutserum eher als in der Milz; Milzexstirpation behindert jedoch nicht ihr Entstehen, verzögert aber, wenn 3—4 Tage p. inj. vorgenommen, ihr Erscheinen. Wichtig ist die Beobachtung, daß die agglutininfreie Milz vom 2. Tage p. inj., zerrieben, einem anderen Tiere injiziert, Agglutininbildung zur Folge hat; Gaehtgens konstatierte dieselbe Eigenschaft des Blutes 24 Stunden p. inj. Deutsch läßt es daher unentschieden, ob das Agglutinin aus der Bildungssätte sofort ans Blut abgegeben wird, oder ob es im Blute selbst entsteht. Rath konnte in 8 von 9 Fällen keine Agglutinine in der Milz finden, Courmont, Castellani, Petrone fanden immer den Agglutiningehalt der Organe, auch des Knochenmarks, niedriger als den des Blutes. Für eine Organproduktion sprechen die Versuche an parabiotischen Tieren, bei welchen nach Ranzi & Ehrlich nach 11 Tagen nur das geimpfte Tier Agglutinine enthält und erst später das 2. Tier, während bei passiver Uebertragung das Blut beider Tiere Agglutinine enthält; Friedberger & Nasetti fanden allerdings bereits nach 24 Stunden Uebergang der Antigene und daher aktive Immunisierung des 2. Tieres; verschiedene Einverleibung des Antigens (intravenös bei Friedberger & Nasetti) und die größere Menge desselben könnten die Differenzen erklären.

Mit den Befunden über die Produktion von Immunkörpern in den hämatopoetischen Organen hing die Vorstellung zusammen, daß eine funktionelle Reizung dieser auch auf jene fördernd einwirke; durch kleine Aderlässe wird nach Pfeiffer die Produktion der Choleraimmunkörper gesteigert. Widal, Lentz sahen bei Typhus nach Blutungen die früher fehlende Agglutininreaktion auftreten und vermuten einen günstigen Einfluß des Blutverlustes; die experimentelle Verfolgung gab nicht ganz übereinstimmende Resultate.

So ließ in den Versuchen Rothbergers der Aderlaß im allgemeinen keine Steigerung der Agglutininbildung erkennen, nur in 2 Fällen erfolgte ein Wiederanstieg mit auffallend spätem Höhepunkt. Nach Schröder wirkt der Aderlaß als Reiz und erscheint der Anstieg des Agglutiningehaltes am deutlichsten, wenn der Aderlaß beim Beginn der Abnahme, im sinkenden Teil der Kurve vorgenommen wird. In den Versuchen Rothbergers ist bemerkenswert, daß Blutverlust und Agglutininverlust sich nicht immer decken; gerade bei Tieren mit schweren Verlusten an Agglutinin (50—78 Proz.) fand kein Ausgleich statt, während bei einem Verluste an Agglutinin parallel mit dem Blutverlust stets Neu-

bildung eintrat, und zwar sehr rasch, bereits nach 24 Stunden war trotz der eingetretenen Verwässerung eine Steigerung des Agglutiningehaltes nachzuweisen. Aehnliches ergab sich auch für das Verhalten der Normalagglutinine (Rost). Der Agglutininverlust allein wirkt nicht als Reiz, wie es die Versuche Rothbergers mit Blutwechsel ergeben haben; eine Regeneration in verschiedenem Grade erfolgt nur, wenn seit der letzten Injektion eine kurze Zeit verstrichen ist, ja bei Vornahme derselben 2—3 Tage nach dieser kann der Agglutiningehalt sogar höher werden, beim Blutwechsel nach ca. 14 Tagen erfolgt aber dauernder Abfall.

Blutgifte (Hydroxylamin) haben nach Melnikowa & Wersilowa trotz Regeneration ein fast irreparabeles Sinken der Agglutinine zur Folge, auch ist nach vorausgegangener Blutkörperchenzerstörung und nachfolgender Immunisierung die Bildung der Agglutinine erschwert und verlangsamt; in vitro schädigt Hydroxylamin die Agglutinine nicht. Dieses Verhalten der Agglutinine steht im Gegensatz zu dem der Antilysine, für welche Madsen & Tallquist unter der Einwirkung von Pyrodin und Pyrogallol ein neuerliches Ansteigen bei bereits eingetretener Abnahme beobachtet haben.

Bezüglich der Frage, ob die Agglutinine im intravasalen Blute vorhanden sind, wurde bereits angeführt, daß ihre Aktion im Organismus nicht erwiesen ist; Taurelli Salimberi konnte weder im subkutanen Zellgewebe eines gegen Cholera immunisierten Pferdes noch in der Peritonealhöhle eines passiv oder aktiv immunisierten Meerschweinchens Agglutination finden; da dieselbe aber in kürzester Zeit in denselben Flüssigkeiten außerhalb des Organismus auftritt, so nahm er an, daß Zutritt von Sauerstoff für das Zustandekommen des Phänomens notwendig sei. Gheorghiewski, Durham beobachteten aber Agglutination auch unter Luftabschluß. Trumpp konnte beim Typhusbacillus in beschränktem Maße Agglutination im Tierkörper sehen.

Sind Agglutinine im kreisenden Blute vorhanden, so muß der Gehalt des Blutplasmas an ihnen mindestens gleich hoch sein, wie der des Serums. Die darüber vorliegenden Untersuchungen lauten nicht übereinstimmend. Für die natürlichen Agglutinine liegen ausgedehnte Studien von Löwit & Schwarz vor, welche die Agglutinine normaler Kaninchen und Vögel untersucht haben. Im Magnesiumsulfat-, im Citrat- und im Vogelplasma bleiben die Agglutinine unverändert erhalten; im Oxalat-, Fluor- und Phosphatplasma erscheinen dieselben abgeschwächt, bei alkalischer Reaktion des letzteren bleiben sie ungeschwächt erhalten, im Blutegelplasma bald in höherem, bald in geringerem Grade. Da aber in allen künstlichen Plasmen es immer auch während der Beobachtung zur Fibrinausscheidung kam, so wagen die Autoren nicht, aus ihren Resultaten bindende Schlüsse zu ziehen.

Die geringe Intensität des natürlichen Agglutinins gibt keine großen Differenzen; anders ist es mit Immunagglutininen; Figari verglich Zentrifugatplasma und Koagulationsplasma auf den Gehalt an Tuberkuloseagglutininen und fand in allen Versuchen im Zentrifugatplasma einen bemerkenswert geringeren Grad des Agglutinationsvermögens als im Koagulatplasma (z. B. 100 und 400); Glässner jedoch fand das Plasma (Oxalat-) reicher an Agglutinin (1:8000 gegen 1:1000) als das Serum. Nach den Untersuchungen von Dreyer & Walker bei mit B. coli behandelten Tieren wäre der Gehalt des Plasmas an Agglutinin größer als der des Serums, weil das Koagulum Agglutinin absorbiert; doch ist in der Latenzzeit, in der Periode der

Steigerung des Agglutiningehaltes der des Serums größer infolge des Leukocytenzerfalles, später kann der Leukocytenzerfall den Verlust durch die Adsorption von Seite des Gerinnsels nicht mehr kompensieren; danach wären auch die Leukocyten und das leukoplastische Gewebe eine Quelle der spezifischen Antikörper.

Vererbung der Agglutinine. Soweit eine solche durch Uebergang von Agglutininen von der Mutter auf die Frucht oder Aufnahme solcher von seiten des Kindes durch die Milch unter Vererbung (vgl. Morgenroth & Braun, Vererbungsfrage, dieses Handbuch) einbezogen wird, so sind diese beiden Möglichkeiten bereits erörtert. Bezüglich wirklicher, germinativer Vererbung steht natürlich fest, daß vom Vater her keine solche stattfindet (Remlinger). Bezüglich einer Vererbung von der Mutter her fand Jurewitsch, daß die agglutininfreien Jungen von Kaninchen, welche Normalagglutinine besaßen, einige Zeit nach der Geburt anfingen, auch Agglutinine zu enthalten, während solche, die von Müttern stammten, deren Blut keine Spur von Agglutininen enthielt, weder bei der Geburt noch in den späteren Lebenswochen Agglutinine zeigten. Das erste Verhältnis wäre nur analog den bekannten Tatsachen, in welchen kindliches Blut die dem Blut des erwachsenen Organismus zukommenden Eigenschaften, wie Giftempfindlichkeit oder Resistenz ermangelt, und diese Eigenschaften sich erst extrauterin entwickeln.

Sehr merkwürdig ist die weitere Beobachtung Jurewitschs, daß die Agglutininbildung bei Jungen auch auftrat, deren Mütter die Agglutinationsfähigkeit erst künstlich erworben hatte, infolge einer Immunisierung (Typhusbacillen), welche vor dem Beginn der Gravidität durchgeführt wurde. Vier Würfe (Meerschweinchen) von solchen Müttern wurden untersucht; während der Schwangerschaft waren keine Injektionen verabfolgt worden; es fand sich in allen Fällen im Blute der Neugeborenen die Agglutinationsfähigkeit entweder ebenso groß oder 2—5mal stärker als im Blute der Mutter, einmal 1:4000 – im Gegensatz zu den besprochenen Verhältnissen bei der Immunisierung der Mütter während der Schwangerschaft, wo der Agglutiningehalt der Jungen beträchtlich, ca. 25mal schwächer war, als der der Mutter. Es kann kein Zweifel sein, daß in diesen Fällen eine autonome Agglutininproduktion im Organismus der Jungen stattfand, die eine um so merkwürdigere Erscheinung ist, als sie einen so hohen Grad erreicht; es erscheint hier nicht ausgeschlossen, daß agglutinogene Substanzen im Organismus deponiert werden, die erst sukzessive in den Stoffwechsel gelangen, auch auf den Fötus übergehen und so die Agglutininbildung veranlaßt wird.

VI. Spezifizität der Agglutination.

Mitagglutination, Gruppenreaktion, Haupt- und Partialagglutinine. Mischinfektion. Heterologe Nebenagglutinine. Serodiagnostik der Krankheit und der Bakterien.

Bereits Gruber stellte eine gewisse Spezifizität der Reaktion fest. Seine These 15 lautet sogar im Gegensatz zu seiner ablehnenden Haltung über die Spezifizität des Pfeifferschen Phänomens: „Die Agglutinine sind spezifisch verschieden. Jeder Bakterienart entspricht ein spezifisches Agglutinin“. Durham[3] gebrauchte eine allgemeinere Bezeichnung, indem er (Lancet, September 1896) statt

spezifisch „spezial“ setzte. Bekanntlich gab GRUBER bereits an, daß Verwandte des immunisierenden Mikroorganismus vom Immunserum auch beeinflußt werden können, aber am stärksten der homologe Stamm. Deshalb komme der Reaktion aber doch ein hoher diagnostischer Wert zu, denn bleibt die Reaktion negativ oder bleibt sie unvollkommen, so ist es völlig sicher, daß der geprüfte Bakterienstamm nicht zu jener Art gehört, welche zur Herstellung des Serums gedient hat.

PFEIFFER & VAGEDES haben noch in demselben Jahre (1896) an einem hochwertigen Choleraimmunserum festgestellt, daß die Reaktion bei Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse streng spezifisch sei: „Eindeutige Resultate, die eine strenge Spezifizierung erleiden.“ KOLLE sprach sich in diesem Handbuche „Spezifizität der Infektionserreger“ (1. Band) dahin aus, daß die Agglutination ein ganz vorzügliches Differenzierungsmittel bei Typhus- und ähnlichen Bacillen und bei Cholera und choleraähnlichen Vibrionen sei, indem das hochwertige Serum in starken Verdünnungen nur die Typhus- resp. Cholerabakterien agglutiniert.

Diese Tatsache steht auch heute noch fest; es müssen aber bei der Besprechung der Spezifizität im allgemeinen zwei Dinge auseinandergehalten werden, nämlich die Art der Bakterien und zweitens der Umstand, daß die Beurteilung der Spezifizität an künstlich hergestellten Immunseris eine ganz andere ist, als die eines im Verlaufe oder nach überstandener Krankheit bei Mensch oder Tier gefundenen Agglutinationswertes im Serum. Das eine Mal ist der agglutinogene Faktor bekannt, das andere Mal wird dieser erst mittels der Reaktion gesucht, und kann derselbe daher nur mit Berücksichtigung der Normalagglutinine und anderer noch zu besprechender teilweise sehr komplexer Umstände mehr oder weniger bestimmt festgestellt werden. Was den ersten Punkt anbelangt, ist zu unterscheiden zwischen jenen Bakterien, bei welchen die Agglutination eine Eigenschaft der ganzen Art ist, wie es bei den zuerst am meisten untersuchten Typhus- und Cholerabacillen tatsächlich der Fall ist, und solchen, bei denen die Reaktion entweder einen unregelmäßigen Charakter hat (starke Unterschiede in der Intensität bei verschiedenen Stämmen derselben Art) oder gar nur individualer Natur ist, indem gewöhnlich nur der homologe Stamm einer Art vom zugehörigen Serum agglutiniert wird, selbst dann, wenn sich die anderen Stämme weder durch kulturelle noch biologische Eigenschaften unterscheiden, wie dies beim Bacterium coli typisch der Fall ist.

Da seit WIDAL die Reaktion auch für die Krankheitsdiagnose verwendet wird und man dem Krankenserum in derselben Weise wie dem Immunserum eine hohe Spezifizität zuschreiben wollte, die sich aber nicht immer in derselben Weise bestätigte, so entwickelte sich aus der Frage der diagnostischen Verwendbarkeit der Agglutination des Krankenserums eine Streitfrage über die Spezifizität der Agglutination überhaupt; künstliches, hochwertiges Immunserum und Identifizierung von Bakterien durch dasselbe wurde mit dem unbekannten Krankenserum und der Diagnose eines unbekannten Krankheitserregers mittels demselben für gleichwertig gehalten.

Ich habe in der ersten Auflage dieses Handbuches diese Frage an der damals schon sehr reichen Literatur über das Serum Typhus-

kranker kritisch durchgesprochen und möchte jetzt nur mehr darauf verweisen, zumal die Frage mittlerweile doch wesentlich geklärt ist. Kurz wiederholt waren es die Beobachtungen, daß dem Typhusbacillus in gewisser Beziehung ähnliche Mikroben durch das Serum Typhöser ebenfalls agglutiniert werden, und zwar der Bacillus der Psittakose (Gilbert & Fournier, Achard & Bensaude[2], Nicolle[1]), doch machten bereits Widal & Sicard[2] auf die quantitativen Unterschiede aufmerksam — der Bacillus enteritidis (Durham[5], Smith & Tennant in ca. 25 Proz. der Fälle bei einer Typhusepidemie in Belfast) selbst noch, wie es spätere und neuere Untersuchungen bestätigen, vor der Agglutination der Typhusbacillen (vgl. Anhang) — das Bact. coli, teils typisches, teils Paracoliarten, zum Teil die späteren Paratyphusbacillen.

Die Angaben lauteten sehr verschieden, während Klein, van de Velde[2], Durham[6], Orlowski, Lesage, Valagussa, Fraenkel[1], Chantemesse[1] keine, Courmont[2], Christophers, Köhler & Scheffler eine geringe Beeinflussung, nicht stärker als durch Normalsera, beobachteten, stellten Beco, Widal & Nobécourt[1], Courmont[2], Ziemke, Mann, Tarchetti[1], F. Brancati, van der Velde[3], Mils, Pfaundler[4], Jatta, Biberstein und Stern[4] Agglutination der Colibacillen durch Typhusserum fest; Ustvedt, Sternberg, Busson fanden Typhusserum auf aus Wasser kultivierte Coliarten wirksam und zwar bis 1:1000, Sternberg (Titer auf Typhusbacillen 1:10000).

Eine Reihe von Autoren hat eine solche Nebenagglutination von Typhuskrankenseris auf die genannten Bakterien, namentlich die Coliarten auf normale Agglutination bezogen, die, wie bereits angeführt worden ist, tatsächlich in derselben schwankenden Höhe vorkommt (Jatta, bereits Gruber & Durham, Grünbaum, Widal), wie denn auch Agglutinine auf Typhusbacillen bei Nichttyphösen und Gesunden nicht selten sind (Stern[4], Köhler, Sklower) in einzelnen Fällen auch in höheren Werten.

Köhler & Scheffler konnten in eigens darauf gerichteten Untersuchungen feststellen, daß sich nie ein nur vom Typhusserum agglutinierbares Coli fand, sondern daß ein solches immer auch vom Serum eines Gesunden beeinflußt werde. Andererseits glaubte man doch bei Typhuskranken relativ häufiger höhere Agglutinationswerte für Bacterium coli gefunden zu haben (Jatta, Kühnau, Stern[4], Biberstein, Masius, van de Velde[3]), so daß Jatta, Pfaundler einen gewissen Parallelismus zwischen der Wertigkeit des Typhusimmunserums und der Agglutination auf Coli annahmen.

Achard[2] sprach sich zuerst dahin aus, daß nicht die Agglutination, sondern der Grad derselben spezifisch sei. Widal[3] formulierte die Verhältnisse der Agglutination auch typhusähnlicher Bakterien dahin, „daß der infizierende Mikroorganismus dem Serum so sehr seinen Stempel aufdrückt, daß es gegenüber Angehörigen derselben Familie seine Zusammengehörigkeit durch die Agglutination verrät“, eine Anschauung, die dann in der von Pfaundler zunächst gebrauchten Bezeichnung der „Gruppenagglutination“ ihren Ausdruck fand. Zupnik[1] ging soweit, überhaupt nur von Gattungsspezifizität zu sprechen. Diese Anschauung mußte aber bezüglich Bact. coli fallen gelassen werden, obwohl Zupnik versuchte, neben einer Typhus- eine Coli- etc. Gruppe mit „gattungsspezifischer“ Agglutinabilität zu unterscheiden. Klemens & Mahler versuchten für diese Gattungsspezifizität des Coliserums einen Nachweis zu bringen, aber derselbe beschränkt sich auf ein Krankenserum, welches von 40 Coliarten 16 agglutinierte, ein zweites agglutinierte jedoch nur 2 im Verhältnis über 1:20. Die Spezifizität

soll nach ZUPNIK nur eine relative sein, nur die maximale Reaktion ist absolut spezifisch.

Aber gerade dort, wo wir Grund hätten, von Gruppen im systematisch naturwissenschaftlichen Sinne zu sprechen, z. B. bei den Choleravibrionen und choleraähnlichen Vibrionen, besteht eine solche Beziehung durchaus nicht (KOLLE & GOTSCHLICH, PRAUSNITZ) und ebenso widersprechen gerade die Agglutinationsverhältnisse des Bacterium coli einer derartigen Auffassung. Zahlreiche Untersuchungen (BENSAUDE, PFAUNDLER[1], RADZIEWSKI, ROTHBERGER etc., vgl. Anhang) haben ergeben, daß eine nur auf den zur Immunisierung verwendeten Stamm beschränkte Agglutination gar nicht selten, ja die Regel ist, und daß Stämme, die sich kulturell und biologisch ganz analog verhalten (DURHAM), aus demselben Material herstammen (BURRY), durchaus nicht gemeinsam von demselben Serum agglutiniert werden, sondern sich wie fremde, streng verschiedene Arten verhalten. Es lag wohl in der älteren Tradition der bakteriologischen Forschung, zwischen B. coli und Typhusbacillus nahe verwandtschaftliche Beziehungen anzunehmen, die nach A. FISCHER gar nicht bestehen. Tatsächlich sind die Befunde gar nicht selten, in denen sich B. coli ganz fremd verhält, namentlich haben die Coli- oder Paracolisera häufig keine agglutinativen Eigenschaften gegenüber Typhusbacillen oder Psittakose (NICOLLE), wie auch bei menschlichen Erkrankungen, auch durch Paracoli (Paratyphus), sich keine Reaktion auf Typhusbacillen fand (VEDEL, JOHNSTON & MACTAGGART, SMITH & TENNANT, GWYN, CUSHING, die Paratyphusfälle SCHOTTMÜLLER[1,2], von KNOTH, BRION & KAYSER, DE FEYFER & KAYSER, KAYSER[1], oder typhusähnliche Erkrankungen von COLEMAN & BUXTON, JOHNSTON[2], HEWLETT, LOBMAN & HUME). Dieses Verhalten ist, abgesehen von der strengen Spezifizität in manchen Gruppen, wie den Vibrionen, mit der Vorstellung einer Gruppenreaktion nicht vereinbar. Dazu kommen nun die, wenn auch vereinzelten Beobachtungen, daß zweifellos ganz differente Infektionen, z. B. durch Proteus (LUBOWSKI & STEINBERG) oder durch Meningokokken Sera lieferten, die Typhusbacillen bis 1:500 agglutinierten.

Zur Erklärung der Tatsache, daß Agglutinine teilweise, auch wechselweise auf verschiedene Bakterienarten oder durch biologische Eigenschaften als Rassen differenzierte Stämme einwirken (Mitagglutination), genügt die von DURHAM (1900) entwickelte Vorstellung, daß die agglutinogene Substanz der Bakterien nicht einheitlich ist, sondern aus zahlreichen Komponenten besteht (a, b, c usw.), denen im Agglutinin eine ebensolche Anzahl von Teilagglutininen (A, B, C usw.) entsprechen, und daß einzelne der agglutinogenen Komponenten verschiedenen Bakterien gemeinschaftlich sind. Wenn z. B. Bacillus enteritidis die auch dem Typhusbacillus zukommenden Elemente d, e, f gemeinsam hat, so wird der Bacillus enteritidis durch Partialagglutinine D, E, F des Typhusagglutinins A—F mitagglutiniert werden. Dementsprechend unterschieden DURHAM analog wie EHRLICH & MORGENROTH für den hämolytischen Immunkörper, ein Hauptagglutinin, welches die spezifische Reaktion für das betreffende Bacterium gibt, neben Partialagglutininen (WASSERMANN) für jene Bakterien, die derartige Partialagglutinogene besitzen. Jedenfalls ist diese Nomenklatur indifferenter und erscheint losgelöst von der naturwissenschaftlichen Syste-

matik. Stern spricht von „direkter" und „indirekter" Agglutination. Es können mit der Mitagglutination morphologische und biologische Eigenheiten im Sinne der Artverwandtschaft zusammenfallen, aber letztere ist nicht der Grund für die Mitagglutination; ganz unzulässig ist es, aus einer solchen auf erstere zu schließen, ohne Uebereinstimmung der morphologischen und biologischen Merkmale.

Smith & Reach nahmen bereits an, daß der Agglutinationscharakter auch durch den Aufenthalt des Mikroorganismus in verschiedenen Wirten beeinflußt werde; dies ist ausgesprochen bei den Streptokokken und bei der Gruppe des Paratyphus B und des Bac. enteritidis der Fall. Aufenthalt und Passage durch dieselben Tierkörper spielen eine wesentliche Rolle. Während z. B. das Immunserum von menschlichen Enteritisbacillen häufig Mitagglutinine für Typhusbacillen enthält, fehlten solche bei dem Immunserum, erzeugt mit den von Kälberruhr stammenden Enteritisbakterien (Langkau).

Besitzt ein Bakterium keine oder wenige gemeinsame Gruppen, spricht auch der tierische Organismus auf diese gleichgestimmt sozusagen an, so wird ein vollkommen spezifisches Agglutinin entstehen, im anderen Falle werden scheinbar mehrere Agglutinine vorhanden sein. In dieser Theorie finden gewiß zahlreiche widersprechende Beobachtungen über ausschließliche oder mehrfache Agglutinine ihre Erklärung.

Nach dieser Auffassung scheint es berechtigt, anzunehmen, daß das Hauptagglutinin auch immer das in den stärksten Verdünnungen wirksame sei. Nun fehlt uns ein eigentliches Maß für die Agglutininmenge, denn dieselbe erscheint immer in Verbindung mit der Agglutinabilität der verschiedenen Bakterien; diese ist, wie bereits besprochen wurde, nicht nur bei verschiedenen Arten, sondern auch bei verschiedenen Stämmen sehr verschieden.

R. Pfeiffer[3] hat ein eklatantes Beispiel dieser Art an zwei Cholerakulturen gleicher Abstammung beobachtet, von denen die eine durch Tierpassage hochvirulent erhalten wurde, die andere aber nur auf dem Nährboden fortgepflanzt wurde. Erstere reagierte auf ein Testserum vom Titer 1:10000 in dieser Verdünnung, während die avirulente Kultur noch auf 1:200000 agglutiniert wurde. Hier geht die Zunahme der Agglutinabilität mit einer Virulenzabnahme einher (auch Stefano); doch kann die Agglutinabilität mit oder ohne Virulenzschwankung stark differieren, vgl. S. 506; Klinger fand Kongruenz.

Außer dem Rezeptorenapparat des Bakteriums kommt aber auch noch dem des tierischen Organismus eine ebenso große, wenn nicht größere Bedeutung für die Konstitution des Agglutinins resp. der Mitagglutinine zu, indem ein und dasselbe Bakterium bei verschiedenen Tieren auch ein verschiedenes, nicht nur in seiner Höhe, sondern auch im Gehalt an Mitagglutininen differierendes Agglutinin liefern kann.

Wassermann erbrachte für diese Verhältnisse einen guten Einblick an einem Coliimmunserum, von Kaninchen, Meerschweinchen, Tauben mit demselben Colistamm erzeugt, auf 15 verschiedene Colistämme geprüft. Das Kaninchenserum agglutinierte in der Verdünnung 1 : 100 außer dem homologen noch 2 Stämme. Das Meerschweinchenserum war auf den homologen Stamm ebenso wirksam, agglutinierte aber 1:50 kein anderes Coli, und das Taubenserum agglutinierte einen anderen Stamm als das Kaninchenserum. Nun könnte bei Bacterium coli die große Inkonstanz seiner agglutinogenen Substanz hierbei mit von Einfluß sein. Ganz ähnlich verschiedene Konstitution des Agglutinins fand Rich. Pfeiffer gegenüber Choleravibrionen beim Huhn, Hund und Kaninchen, die mit demselben Stamm immunisiert wurden. Das Serum vom Huhn agglutinierte den

homologen Stamm 1:2000, das des Kaninchens und des Hundes 1:2000. Ein anderer Stamm wurde vom Huhn 1:200, vom Hund 1:500, vom Kaninchen 1:100 agglutiniert. Gibt es solche Verschiedenheiten im Hauptagglutinin, so sind solche in den Mitagglutininen noch eher zu gewärtigen. Hierfür erbringen unter anderen einen instruktiven Beweis Versuche KAYSERS[3] mit einem Typhusstamm von einem Kranken, dessen Serum zuerst nur Paratyphus A 1:2500, Paratyphus B 1:1000 und erst später Typhusbacillen nur 1:1000 agglutinierte; bei den Kaninchenseris vom Titer 1:3000 resp. 7000, ebenso wie bei einem Hundeimmunserum von 1:5500 schwankten die Mitagglutinine für die beiden anderen zwischen 50 und 300.

Auch bei derselben Tierart können die Mitagglutinine außerordentlich schwanken, wie dies LIPSCHÜTZ bei der Prüfung von drei Typhusimmunpferdeseris vom Titer 1:10000 und 1:20000 erfahren hat, die teils einen Paracolistamm 1:200, den GÄRTNERschen Bacillus 1:400 beeinflußten, während ein Serum vom Titer 1:20000 gar keinen Stamm agglutinierte.

Im allgemeinen enthält das Kaninchenserum bei verschiedenen Immunisierungen die geringsten Mitagglutinine (außer Gärtnerserum, LEBRAM); die Immunsera von Pferd und Esel für manche Bakterien, z. B. Dysenteriebacillen, auch Choleravibrionen enthalten nicht unbeträchtliche Mitagglutinine HAENDEL, HETSCH & LENTZ); bei der Herstellung von Testseris wird darauf Rücksicht genommen.

Für eine richtige Beurteilung der Mitagglutinine genügt nicht die Angabe ihrer Höhe allein, sondern es sollte immer auch der Titer des Hauptagglutinins angegeben sein; als eine kurze Ausdrucksform wäre die eines Bruches zu empfehlen, bei dem der Zähler den gefundenen Wert, der Nenner den austitrierten Wert des Hauptagglutinins enthält, wie es LENTZ[4] in praktischer Weise für die Agglutinationswerte bei diagnostischen Untersuchungen empfohlen hat, wobei der Nenner den Titer des Testserums angibt.

Die Höhe des Titers hat gemeinhin keine Beziehung zur Zahl und Höhe der Partialagglutinine, wie es BRUNS & KAYSER angenommen hatten (nach KAYSER bei ein und demselben Tier), im Gegenteil, es kann bei Steigerung des Hauptagglutinins das Mitagglutinin beträchtlich zurückbleiben (SCHÖNE), eventuell bei Krankenseris im weiteren Verlauf gänzlich verschwinden, wie es auch vor dem Hauptagglutinin erscheinen, z. B. Mitagglutination auf Typhusbacillen bei Enteritisinfektion, und bestehen bleiben kann (RIMPAU).

Wie im Typhus-, auch Paratyphus Enteritis-Krankenserum Mitagglutination auf andere Bakterien vorkommt, so können bei anderen Infektionen Mitagglutinine auf Typhusbacillen entstehen, die begreiflicherweise eine nicht leicht eruierbare Quelle für Irrtümer bei der GRUBER-WIDALschen Probe darstellen. Es liegt nahe, sich hierdurch die Fälle positiver Widalreaktion zu erklären, bei denen keine Typhuserkrankung vorlag, noch vorausgegangen war. So beobachteten MEINICKE & NEUHAUS eine Colibacillose mit 1:50 auf Typhusbac.; das aus der Leiche gezüchtete Paracoli wurde 1:5000 agglutiniert. Die starken Mitagglutinine bei Fleischvergiftungen namentlich durch B. Gärtner wurden bereits erwähnt. Hier kann durch eine weitere Analyse die Fehlerquelle eruiert werden (CASTELLANIS Versuch), weil uns diese Verhältnisse, namentlich in den Ländern, wo Paratyphus und Gärtnerinfektionen vorkommen, bekannt sind. Geradezu ausgeschlossen ist dies aber in den Fällen, in welchen eine ganz andere Infektion vorlag z. B. Puerperalfieber (LOMMEL), Staphylo-

kokken oder Proteusinfektionen (Lubowski & Steinberg), Streptokokken und Proteus (Jochmann), Pyocyaneusinfektion (Klineberger[2]). Diese Fälle erfuhren Aufklärung, andere, namentlich bei Genesung, werden als Typhen mit Mischinfektion betrachtet wie z. B. Fall Haim. Auch bei Phthisikern wurde Agglutination auf Typhusbacillen beobachtet, nach Kreucker, Bredow nicht so selten, von Rothe allerdings negiert. Bei nicht-bakteriellen Infektionen, wie z. B. Malaria, fehlt eine Agglutination auf Typhusbacillen.

Lubowski & Steinberg fanden bei Tierversuchen mit den von den Kranken gezüchteten Bakterien beim Proteusserum eine Mitagglutination auf Typhusbacillen von 1280:80000 und beim Staphylokokkenserum eine Typhusagglutination bei der Verdünnung 1:640, bei demselben war A_2 für Paratyphus B = 160, für Bacillus Brügge = 640, bei einem anderen Tier aber für Typhusbacillen und Paratyphusbacillen A_2 unter 20, für Brügge = 320.

Es unterliegt somit wohl keinem Zweifel, daß diese Art von Mitagglutination die diagnostische Bedeutung der Widalschen Reaktion sehr beeinträchtigen kann; doch sind derartige Fälle selten.

Für ein klinisches Symptom, bei dem man wiederholt positiven Widal auf Typhus-, auch Paratyphusbacillen gefunden hat, weiß man schon lange, daß die positive Reaktion nur mit Vorsicht zu beurteilen ist, indem zumeist eine Mitagglutination vorliegt. Das ist der Fall bei Ikterus.

Grünbaum[1], Köhler, Zupnik[1], Eckard beobachteten bei Ikterischen, bei Leberkrankheiten mit Ikterus, bei Weilscher Krankheit (Zupnik), Eckard auch bei Cholangitis, Megele bei Leberabszeß, Langstein & Meerwein bei Cholangitis infolge von Cholelithiasis, ebenso Joachim[1], daß das Blutserum stärker Typhusbacillen agglutiniere (1:30—1:50), als es bei Nichttyphösen der Fall ist. Eisenberg & Keller sahen Agglutination der Arloingschen Tuberkelbacillen bei Ikterus 1:500, das andere Mal 1:50, Rostoski Typhusagglutination bei katarrhalischem Ikterus noch bei 1:1000. Man glaubte zunächst an eine künstliche Agglutination durch Galle.

Köhler[3] fand die Galle von Menschen und Tieren besonders bei konzentrierter Beschaffenheit (Gallenstauung durch Ligatur des großen Gallenganges) agglutinierend auf Typhusbacillen, auch manchmal das Blutserum nach intravenöser Injektion von taurocholsaurem Natrium. Neuere Untersuchungen von Königstein, Lüdke[1] über die Galle und das Blutserum bei experimentellem hämolytischen Ikterus, Cholecystitis, Carcinoma hep. usw. ergaben ganz negative Resultate; ebenso Eckard, wo das Serum positiv war, die Galle (Fistel) negativ. Auch bei Ikterus neonatorum (Lüdke) war die Reaktion negativ, ebenso fand Gilbert & Lipmann in 30 Fällen von Ikterus nur zweimal eine positive, auch Steinberg bei 22 Fällen von Ikterus 7mal A_2 = 40—80, in 2 Fällen mit höheren Werten war vor Jahren Typhus vorausgegangen. Kammerer sah unter 50 Fällen von Ikterus Typhusagglutination 1mal 1:75 und 1mal 1:40, Lüdke unter 32 Fällen 11mal Agglutination auf 1:50; auch Kreissl erhielt wiederholt bei Ikterischen nur negative Resultate. Bemerkenswert ist, daß Lüdke auch andere Bakterien (Paratyphus A und B) Coli agglutinierbar fand, aber viel häufiger und intensiver die Typhusbacillen. Nach Blumenthal, der jeden Zusammenhang zwischen Ikterus und Agglutination negiert, beruht das häufige Auftreten der Typhusagglutination darauf, daß Infektion der Gallenwege mit Typhusbacillen viel häufiger vorkommt, als man früher wußte; daneben könnten teils unbekannte Erreger des fieberhaften Ikterus, teils bei der Entzündung der Gallenwege eingedrungene Bakterien die Quelle des Agglutinins sein, welches Mitagglutinine für den Typhusbacillus besitzt (Joachim[1] ein paratyphusartiges Stäbchen aus der Milz). Auch kann sich im Blutserum des Kranken außer Agglutination für Typhus eine für Choleravibrio und Pyocyaneus finden (Joachim). Ebenso hält Stern eine den Ikterus begleitende, respektive ihn verursachende Infektion für die Ursache der Agglutination, ebenso wie Lubowski und Steinberg, die den Fall Megeles speziell auf eine Staphylokokkeninfektion beziehen. Die Annahme einer Proteusinfektion bei Weilscher Krankheit unterstützt diese Auffassung.

Für die Diagnostik der Bakterien haben die Mitagglutinine im allgemeinen, namentlich bei Verwendung hochwertiger Sera keine Bedeutung, weil dieselben so gering sind, daß sie nicht in Frage kommen; bei einem Proteusimmunserum von 1:80000 hat ein Mitagglutinin für Typhus von 1250 keine Bedeutung, auch nicht für ein Typhusserum von 1:20000 die Agglutination eines Paracoli 1:1000. Bleiben wir aber noch weiter bei der Besprechung des Krankenserums.

Eine weitere Quelle für mehrfache Agglutinine bildet sicher die Mischinfektion, die bereits WIDAL & SICARD (mehrfache Immunisierung mit Typhusbacillen und Choleravibrionen) bekannt war.

Von DINEUR[2], CASTELLANI, KRETZ und anderen wurde konstatiert, daß bei Typhus mit Sekundärinfektionen (Staphylokokken, Streptokokken, Pyocyaneus) die Typhusagglutinine erhalten bleiben, ebenso wie z. B. bei Typhus und Maltafieber (DREYER, LAGRIFOUL etc.) oder Typhus und Paratyphus (LEVY & GAEHTGENS, LENTZ etc.- oder bei sekundären Coliinfektionen etc., sich beide Agglutinine finden; hierfür wurde angeführt, daß das Serum Typhöser Colistämme des Kranken häufiger und höher agglutiniere (BIBERSTEIN & STERN, WIDAL & NOBÉCOURT[2]), dem allerdings von KÖHLER & SCHEFFLER widersprochen wurde, womit auch neuere Autoren (KLIENEBERGER[1] und GEISSE, ED. MÜLLER übereinstimmen würden, die hohe Normalagglutinine für Coli gefunden haben.

CASTELLANI studierte die Frage der Mischinfektion experimentell, indem er das Serum von mit Bacillus typhi, Bacterium coli und Bacillus pseudo-dysentericus oder mit einzelnen dieser Bakterien allein immunisierten Kaninchen mit der EHRLICHschen Methode der spezifischen Adsorption der Agglutinine durch die entsprechenden Bakterien prüfte. Die spezifische Absorption mit den homologen Bakterien ergab, daß das entsprechende Agglutinin vollständig erschöpft werden konnte, während die anderen der mit zur Immunisierung verwendeten Bakterien entsprechenden Agglutinine vollständig erhalten blieben, z. B. Serum eines mit Typhusbac., Coli- und Pseudodysenteriebac. behandelten Tieres enthält Agglutinine für alle 3 Arten; durch Absorption mit Typhusbacillen erschöpft, blieb Agglutination auf Coli und Pseudodysenterie vollständig erhalten; finden sich jedoch in einem mit einem einzigen Bakterium gewonnenen Immunserum auch Mitagglutinine, so verschwinden diese mit der Ausfällung des Hauptagglutinins durch das homologe Bakterium. Diese Resultate entsprechen den früher gegebenen theoretischen Annahmen für das Zustandekommen der Mitagglutinine, denn es ist einleuchtend, daß bei der Zusammensetzung des Hauptagglutinins aus Partialagglutininen letztere mit der Erschöpfung des ersteren ebenfalls verschwinden. Der CASTELLANIsche Versuch zeigt mithin:

1. Mitagglutinine verschwinden bei Erschöpfung des Serums durch die Bakterien, welche die Agglutininbindung veranlaßt, vollständig, während das Hauptagglutinin mehr oder weniger stark herabgesetzt wird (was aus dem Bindungsverhältnisse des Agglutinins sich erklärt (vgl. S. 590); z. B. Typhusserum verliert durch Eintragung von Typhusbacillen die Agglutination für Gärtnerbacillen vollständig, für Typhusbacillen teilweise.

2. Die Erschöpfung des Serums mit einem mitagglutinierenden Bakterium läßt das Agglutinin für dieses verschwinden, es bleibt

aber das Hauptagglutinin noch ganz oder zum größten Teil erhalten, z. B. Typhusserum mit Gärtnerbacillen erschöpft, verschwindet die Agglutination für Gärtnerbacillen, das für Typhusbacillen bleibt erhalten.

Mit Hilfe dieser Methode konnte nun der für die Praxis der klinischen Serodiagnostik wichtige Nachweis von Mitagglutininen überhaupt und auch bei hohen Werten derselben erbracht werden. So erwies bereits Jürgens[1] die hohen Agglutinationswerte für Paratyphus B bei Typhuskranken als Mitagglutination.

Bei einem Serum, welches Typhus 1:5000, Paratyphus 1:4000 agglutinierte, ergab die Absättigung mit Typhusbacillen A_2, für Typhus = 2000, Paratyphus = 500, bei Absättigung mit Paratyphus bleibt A_2 für Typhus unverändert = 5000, A_2 Paratyphus = 1000; so ist das hohe Agglutinin für Paratyphus als Mitagglutinin erwiesen, welche Auffassung Jürgens[1] auch durch die Bestimmung des Schutzwertes der Sera bestätigt fand; während der Titer für Typhusbacillen 0,008 –0,002 betrug, war der für Paratyphus von dem normaler Sera nicht verschieden. Ebenso konnte Korte in 2 Fällen von Paratyphus nachweisen, daß die Agglutination für Eberthsche Bacillen 1:80 eine Mitagglutination sei, indem sie nach Absorption durch Paratyphusbacillen vollständig verschwand. In analogen Fällen von Hünemann, Conradi, Drigalski & Jürgens, Sion & Negel auch Zupnik & Posner u. a. ließ der bakteriologische Nachweis von ausschließlich Paratyphusbacillen die Mischinfektion ausschließen.

Posner & Zupnik fanden allerdings, daß bei 5 als Paratyphus gedeuteten Fällen 3mal Paratyphus-, 2mal Typhusbacillen sämtliches Agglutinin erschöpften und daß bei einem sicheren Typhusserum die Agglutinationskraft sowohl durch Typhus- wie durch Paratyphusbacillen, beidemal jedoch nur partiell, erschöpft werden konnte und lehnen die Methode für diagnostische Zwecke am Krankenbette ab, was aus diesen nicht ganz geklärten Fällen allein gegenüber zahlreichen Angaben der Literatur nicht gerechtfertigt erscheint.

Die Methode gestattet, wie mehrfache Untersuchungen ergaben, bei Typhus-, Paratyphus-Enteritisinfektionen die wirklichen Erreger zu eruieren (d'Amato).

Auch für die Ruhrbacillen scheint nach Jürgens[2], Krägel und anderen die spezifische Absorption eine Differenzierung der Agglutinine zu gestatten, wenn auch Lentz[1] widersprechende Resultate hatte.

Diese Beobachtungen zeigten, daß weder die Voraussetzung, daß die höhere Agglutination für einen Mikroben seine agglutinogene (infektiöse) Bedeutung legitimiere, noch daß zwei hochwirksame Agglutinine unbedingt auf eine Mischinfektion zu beziehen sind.

Die Untersuchungen von Castellani fanden weitere Bestätigung durch die von Pulvirenti, von Keutzler & Benczur, ebenso d'Amato, wonach die Bildung eines Immunkörpers durch die eines anderen nicht gehindert wird, und jedes Agglutinin selbständig ist. Unter gewissen Verhältnissen bleibt die Bildung der mehrfachen Agglutinine auch aus, wie z. B. Kayser[4] bei Immunisierung mit Staphylokokken und Typhusbacillen entweder kein Agglutinin erhielt. oder nur für Typhusbacillen, oder nur mäßige Werte. Das gelegentliche Fehlen von Typhusagglutininen bei derartigen Mischinfektionen wie von Kayser beobachtet oder Kreissl (Pneumonie oder Pneumokokken im Blute bei Typhus) kann auf solche Verhältnisse zu beziehen sein.

Im allgemeinen kann die Methode der spezifischen Absorption die Differentialdiagnose zwischen Mitagglutinin und Hauptagglutinin gestatten, wenn es sich um Bakterien verwandter Krankheitsprozesse handelt, z. B. Typhus-, Paratyphus- oder Ruhrbakterien; sie

kann aber nicht vor Irrtümern schützen, wenn Mitagglutinine anderer Abstammung vorliegen. So machte KORTE mit Recht darauf aufmerksam, daß ein Mitagglutinin für Typhusbacillen vorhanden sein kann, welches von einem anderen Bakterium herrührt, z. B. Fälle von Proteusinfektion (LUBOWSKI & STEINBERG), daher von Paratyphusbacillen oder Gärtnerbacillen nicht erschöpfbar ist, so daß es als spezifisches Agglutinin in Erscheinung treten wird.

Mit Haupt- und Mitagglutinin und mit den Spezialagglutininen bei Mischinfektionen sind aber noch nicht alle Möglichkeiten für das Vorkommen mehrfacher Agglutinine erschöpft. So können auch vorhandene Normalagglutinine, die, wie BORDET bereits zeigte, mittels spezifischer Absorption nachgewiesen werden können, als selbständige, von einer Infektion oder Mischinfektion herrührend erscheinen, z. B. die hohen Agglutinine auf B. coli (KLIENEBERGER) oder die hohen Agglutinine auf Rotzbacillen im Pferdeserum, welche bei der Serodiagnose der Rotzkrankheit begreiflicherweise eine Rolle spielen.

Außerdem hat sich gezeigt, daß solche normal vorhandene Agglutinine bei der Immunisierung (und wir dürfen wohl annehmen, gelegentlich auch bei Infektionen) eine Steigerung erfahren. Einblick in diese Verhältnisse brachten zuerst die Untersuchungen von POSSELT & v. SAGASSER sowie von HETSCH & LENTZ.

POSSELT & v. SAGASSER fanden in normalen menschlichen wie tierischen Seris mehrfache Agglutinine, welche bei der Immunisierung mit Typhus-Colibacillen, Choleravibrionen und Dysenteriebacillen nicht nur eine Steigerung im Hauptagglutinin, sondern auch eine solche als Nebenagglutinine erfuhren, dabei noch von auffallend hohem Werte waren. So hatte ein Typhusimmun-Meerschweinchenserum vom Titer 1:12000 Nebenagglutinine für Cholera 4000—4500, für Dysenterie 3500—4000, ein nämliches Typhusserum vom Titer 230 Choleraagglutinin 90—100. Bei der Absättigung des Hauptagglutinins fanden die Autoren nun durchweg, daß die Nebenagglutinine erhalten blieben, ja, nicht nur das, sondern auch noch eine nicht unbedeutende Zunahme zeigten. Ein Typhusimmun-Pferdeserum mit dem Titer 1:15000—20000, Nebenagglutinine für Coli 300, für Cholera 640, ergab nach völliger Erschöpfung des Typhusagglutinins für Coli 700—800, für Cholera 2500—3000; nach Eintragung von Choleravibrionen in dasselbe Serum erhöhte sich der Titer für Typhusbacillen auf 1:30000, somit auf das Doppelte gegen früher, für Coli 500 gegen früher 300. Nur ganz vereinzelt fand sich ein Sinken des Nebenagglutinins. Für diese auffallende Erscheinung (von LÜDKE[4] nicht bestätigt) könnte nur an die Möglichkeit des Ausfalls von irgendwelchen hemmenden Substanzen gedacht werden.

Zu vergleichen wäre die Beobachtung PICKS, welcher nach der Ausfällung eines Typhusimmunpferdeserums vom Titer 1:20000 durch Bakterienkoaguline in der überstehenden Flüssigkeit eine Agglutinationskraft von 1:40000 fand. Eine ähnliche Beobachtung verzeichnen LANDSTEINER & PRAŠEK; M. WASSERMANN hat bei Dysenterieserum nach Ausfällung mit einem heterologen (Flexner-) Stamm ein Ansteigen des Titers auf das 4-fache von 1:2500 auf 1:10000 gesehen.

Im Wiener serotherapeutischen Institute vorgenommene, nicht publizierte Untersuchungen (Dr. GASIAKOWSKI) an normalen wie Immunseris von Pferden, ergaben in normalen Seris ebenso hohe Agglutinine wie im Immunserum, z. B. für Coli 350, für Paracoli 1000, für Cholera 300—350. Nie trat nach Absorption z. B. durch Typhusbacillen eine Erhöhung der restierenden Agglutinine ein, nur teilweise wurde ein Sinken der Nebenagglutinine beobachtet, andere Agglutinine blieben in dem Immunserum wie in dem normalen Serum unbeeinflußt; die hohen Werte von POSSELT & v. SAGASSER wurden sonst nicht beobachtet.

Hetsch & Lentz fanden die Nebenagglutinine bei Choleraimmunseris 1:10000 nur 1:200. Während der Immunisierung mit Choleravibrionen erhöhen sich die normal vorhandenen Agglutinine und treten neue Agglutinine auf bisher nicht agglutinierte Stämme auf. Sie kamen ferner zu dem Resultate, daß eine völlige Ausfällung der spezifischen Agglutinine aus einem hochwertigen Choleraimmunserum nicht immer gelänge, daß dabei der Ausfall der nicht homologen Agglutinine entweder Null oder sehr gering sei, auch nicht gleichzeitig erfolge. Sie betrachten daher die Ausfällungsmethode als von kaum praktischem Werte.

Die übereinstimmenden Ergebnisse der Autoren sagen somit, daß es in tierischen Immunseris auch im Krankenserum heterologe Agglutinine gibt, welche keine Bindungsfähigkeit für die zur Immunisierung verwendeten resp. bei der Krankheit beteiligten Bakterien besitzen, sich selbständig verhalten, und bei diesen Prozessen auch eine Steigerung erfahren (Lüdke[4]). Sie könnten als heterologe Nebenagglutinine oder kurzweg als Nebenagglutinine (Posselt & v Sagasser) unterschieden werden; für ihre Entstehung passen die Vorstellungen über die der Partialagglutinine nicht. Man wird zu der Annahme veranlaßt, daß außer der durch die Bindung agglutinogener Substanz an Zellenrezeptoren entstandenen homologen Agglutinine auch andere Rezeptoren verwandter Qualität frei werden. Nicht immer scheinen es normale Agglutinine zu sein, deren Produktion durch den adäquaten Reiz gesteigert wird, wie es aus Versuchen von Haendel hervorgeht. Als wenige Beispiele dafür, daß ein Rezeptorenapparat durch den Reiz einer nicht homologen Gruppe zur Sekretion angeregt wird, wäre an die Beobachtung Verneys[2] über die gegenseitige Wirkung aufeinanderfolgender Immunisierungen zu erinnern, wobei er eine Abhängigkeit des Coliagglutinins von der Immunisierung mit Typhusbacillen fand, ferner an die Beobachtung von Obermeyer & Pick von dem Wiederauftreten eines bestandenen aber verschwundenen Rinderpräzipitins nach Injektion von Pferdeeiweiß, neben dem homologen Pferdepräzipitin, endlich an die Beobachtung von v. Dungern, nach welcher unter mehreren Kaninchen, die mit Majaplasma behandelt worden waren, eines ein Serum besaß, das außer Majaplasma auch Octopusplasma präzipitierte. Allem Anscheine nach erreichen aber die heterologenen Nebenagglutinine in gewissen hochwertigen Immunseris (Cholera-, Typhus-, Dysenterie- [Shiga] u. a.) keine die spezifische Reaktion des Serums beeinträchtigende Höhe (Hetsch & Lentz), wohl aber könnten sie bei der Beurteilung eines Kranken- resp. Rekonvaleszentenserums in Betracht kommen (Lüdke).

Die Serodiagnostik der Krankheit gestaltet sich somit gelegentlich sehr kompliziert; häufig wird der Erreger nur aus den klinischen Erscheinungen nach der Erfahrung oder besonderen Umständen vermutet; eine absolute Höhe der Serumverdünnung, von welcher an die Agglutination als spezifisch zu betrachten ist, kann nicht angegeben werden, außer, daß die Höhe derselben doch über der von Normalagglutininen stehen soll. Selbst beim Typhus erkannte man, daß mit der Erhöhung der Serumverdünnung keine absolut sichere Diagnose gegeben ist. Die Forderung nach einer Verdünnung von 1:75 (Bruns & Kayser) oder 1:100 (Jürgens) läßt die Fälle verlieren, bei welchen die Agglutination nicht so hoch ist, und es sich doch um Typhus handelt. Aufstellung von Reihen, Steigerung der Anfangswerte bei einer wiederholten Untersuchung, können auch bei niederem absoluten Titer sichere Anhaltspunkte geben. Da die

praktische Anwendung der Reaktion sich hauptsächlich auf Typhus und typhusähnliche Erkrankungen, Fleischvergiftungen, Dysenterie erstreckt, so wird der Nachweis von mehreren Agglutininen und ihre Differenzierung durch das spezifische Bindungsvermögen (Castellani) unter Berücksichtigung der oben angeführten Kautelen angezeigt sein. Ein aus dem Kranken kultiviertes Bakterium erhält durch den positiven Ausfall der Agglutination seine ätiologische Bestätigung, z. B. Horiuchi, mandschurischer Flecktyphus, Marotte, Mc Naught etc. typhusartige Erkrankungen. Das Fehlen einer Agglutination hat keine ausschlaggebende Bedeutung. In solchen Fällen sowie zur Eruierung von Bacillenträgern ist immer das Kulturverfahren anzuwenden; bei letzteren wie bei leichten Erkrankungen kann Agglutination ganz fehlen, wurde aber auch wiederholt beobachtet, so daß zur Orientierung bei Untersuchung von einer Menschengruppe eine entdeckte Agglutination leiten kann. Im Anhang finden sich die wesentlichsten Angaben über das Verhalten der Agglutination bei verschiedenen Erkrankungen.

Die Diagnostik der Bakterien ist relativ einfacher und bildet ein unentbehrliches Hilfsmittel in der Identifizierung der Cholera-, Typhus-, Paratyphus-, Dysenteriebacillen; es ist ein großes Verdienst Kolles, durch systematische Untersuchungen bei verschiedenen Bakterienarten (Cholera, Pest, Typhus, Paratyphus und Fleischvergifter), die von Uhlenhuth auf die große, so lange unklare und menschen- und tierpathogenen Rassen enthaltende Gruppe des Bacillus enteritidis und des Paratyphusbacillus (vgl. Anhang) ausgedehnt wurden, viele Agglutinationsverhältnisse klargelegt zu haben. Sie kann aber auch zur Differenzierung noch anderer Bakterien, welche durch eine einheitliche agglutinogene Substanz ausgezeichnet sind, angewendet werden, z. B. Diphtheriebacillen (Schwoner), Staphylokokken (Kolle & Otto) u. a., auch Tuberkelbacillen (Sobernheim). Durch diese Festlegungen bei einer Anzahl von Bakterien wurde die Anschauung über die Spezifizität der Agglutination auf eine sichere Grundlage gebracht.

Eine absolute Bedingung ist die Verwendung eines hochwertigen Serums, dessen Höhe bei einzelnen Bakterien verschieden ist. Für den Pestbacillus ist z. B. ein Serum 1:1000 genügend, für die Identifizierung des Typhus- oder Paratyphus-Bacillus wäre ein solches ungenügend, da Paracoliarten noch 1:1000 agglutiniert werden können; hier erscheint ein Titer von 1:10000 und darüber notwendig, ebenso für Choleravibrionen ca. 1:10000. Das Serum muß bis zu seinem Grenzwert austitriert werden. Wenn unter diesen Voraussetzungen ein Bakterium noch bis zum Grenzwert agglutiniert wird, so kann man mit Bestimmtheit sagen, daß es mit dem zur Herstellung des Serums verwendeten identisch sei. Da ist die Agglutination „ein absolut zuverlässiges Mittel für die Identifizierung resp. Differenzierung" einer Reihe von Bakterien (Kolle). Krankenserum ist ein absolut ungeeignetes Testserum. Eine Fehlerquelle kann die mangelhafte Agglutinabilität des zu bestimmenden Bakteriums bilden. Der Absorptions- oder Bindungs- (Castellanis) Versuch kann, da die Bindung oder Absorption des Agglutinins der essentielle Vorgang bei der Agglutination ist, diese vollständig und gleichwertig ersetzen. Adsorbiert ein Stäbchen alles Agglutinin der betreffenden Art, so ist es mit dem agglutininerzeugenden sicher identisch. Es kommen aber

Stämme mit geringerer Bindungsfähigkeit vor, d. h., daß, trotzdem sie scheinbar alles Agglutinin entzogen haben (nicht mehr agglutiniert werden), die betreffende Serumverdünnung noch Agglutinin für einen anderen komplett bindenden Stamm enthält.

Pfeiffer & Friedberger beobachteten zuerst hohe Bindungsfähigkeit von Ambozeptoren bei einem sehr virulenten Stamme und brachten beide Eigenschaften in Beziehung. A. Wassermann fand beim Typhusbacillus die hohe Bindungsfähigkeit unabhängig von der Virulenz, und nach Cole binden virulente und avirulente Typhusbacillen im selben Grade. Die Ursache für die Verschiedenheiten ist noch unbekannt. Doch sei an den Befund von Porges & Prantschoff erinnert, die für eine spontan flockende Cholerakultur eine geringere Agglutininadsorption fanden, was aus dem veränderten Bakterienprotein (geringe Stabilität der Suspension) erklärlich wäre.

Meinicke, Jaffé & Flemming fanden bei 2 Stämmen, die sich bezüglich der Seroreaktionen als echte Choleravibrionen erwiesen, große Differenzen (vgl. Hetsch & Lentz), die so weit gingen, daß bei Erschöpfung mit einem Stamm noch Agglutination für einen anderen bis nahe zur Titergrenze vorhanden blieb. Absorptionsversuche bei Bakterien, die andere Stoffe absorbiert hatten, wie z. B. in den Versuchen von O. Schwarz, liegen nicht vor.

Auch die Herstellung und Prüfung eines Immunserums mittels des fraglichen Bakteriums kann über seine Natur Auskunft geben; so züchteten Bofinger & Dieterlen bei einer Massenvergiftung ein Stäbchen, welches, zwischen Coli- und Paratyphus B stehend, agglutinatorisch eine Sonderart darstellte, jedoch ein Serum lieferte, das Gärtnerstämme hoch agglutinierte. Gerade in der Gruppe der Fleischvergifter kommt Inagglutinabilität der frisch gezüchteten Stämme nicht selten vor. Da bei den der großen Gruppe des Paratyphusbacillus B und des Gärtnerschen Bacillus angehörenden Bakterien, bevor auf Grund der Untersuchungen der letzten Jahre Klarheit geschaffen war, zahlreiche Arten unterschieden worden sind, so wurde beim Bindungsversuch scheinbar auch Absorption durch „heterologe" Stämme beobachtet; so sah Spät, daß ein Immunserum von „Känsche" (Holst.) durch Absorption mit Stamm Brüx zwar alle anderen Agglutinine (Typhus, Paratyphus, Mäusetyphus, Preiss [Schweinepest]) mit den eigenen verlor, daß dasselbe aber auch mit Mäusetyphus- und mit Preissschen Bacillen der Fall war; daraus wurde im Sinne Zupniks die These aufgestellt, daß nicht nur arteigene, sondern auch artfremde Bakterien imstande sind, die Agglutinationskraft eines vielwertigen Serums vollständig zu erschöpfen. Eben der Umstand, daß alle drei Arten das Serum erschöpfen können, beweist, daß sie zusammengehörig sind. Diese Gruppe des Paratyphus B mit den verschiedenen menschen- und tierpathogenen Arten, die kulturell nicht zu unterscheiden sind, kann zwar entsprechend der Veränderbarkeit ihrer agglutinogenen Substanz serologisch Differenzen zeigen, die aber inkonstant sind, weshalb auch ihre Trennung in Arten nicht gerechtfertigt ist.

Es ließen sich viele Beispiele hierfür anführen, es seien nur zur Illustration einige angeführt: Bonhoff, ebenso wie Vagedes fanden Paratyphusserum mit Mäusetyphus erschöpft, auf Paratyphus und Mäusetyphus unwirksam; dagegen Levy & Fornet Paratyphusserum mit homologem Stamm abgesättigt, auf Mäusetyphus, Fleischvergifter und Psittacose noch wirksam. Bei einem Versuch von Selbstinfektion mit Mäusetyphus (Fleischhanderl) wurden aus dem Stuhl Mäusetyphusbacillen kultiviert, die von einem Mäusetyphusserum (Laboratoriumsstamm) nicht agglutiniert wurden, nur vom Krankenserum. Analoge Verhältnisse sind von den Streptokokken bekannt, hier ist die Agglutinabilität beschränkt auf Streptokokken, aus denselben äußeren Verhältnissen z. B. Streptokokken vom Gelenkrheumatismus (Meyer), von Scharlach (Salge & Hasen-

KOPF, MOSER & PIRQUET), von Variola und Vaccine (DE WAELE & SUGG) oder von derselben Tierart, wobei dann Streptokokken verschiedener Provenienz durch die Passage im selben Tier ein gleichmäßiges agglutinatorisches Verhalten acquirieren.

Wie sich die tier- und menschenpathogenen Arten des Bacillus enteritidis und des Paratyphus B auch mit der Absorptionsmethode nicht typisch sondern lassen, so dürfte es auch in der Gruppe der giftarmen Dysenteriebacillen sein. In diesen Gruppen liegen Bakterien vor, deren agglutinable resp. agglutinogene Substanz sehr beeinflußbar ist, so sehr, daß die Aenderungen am Rezeptorenapparat unter gewissen Verhältnissen die Artspezifizität verdecken; sie bleibt aber schließlich immer so weit erhalten, daß z. B. Enteritis- und Paratyphusbacillen zu trennen sind.

Für vorübergehende Aenderungen der Spezifizität gibt die sogenannte Paragglutination ein Beispiel (vgl. S. 573), womit von KUHN & WOITHE die Erscheinung bezeichnet wurde, daß Colibakterien, auch Kokken aus dem Darm bei chronischer Dysenterie durch Flexnerserum beeinflußt werden, wobei ihr Serum eine stärkere Mitagglutination auf Flexnerbacillen zeigte; eine Beeinflussung der Darmbakterien von Seite des Organismus konnten die Autoren nicht erweisen. BUSSON konstatierte an einem gemeinsam mit Flexnerbacillen gezüchteten Colistamm eine ausgesprochene Steigerung in der Intensität der Agglutination.

Es kann somit die durch verschiedene Vorgänge zustande kommende Veränderung mancher agglutinablen Substanz (vgl. S. 573) die Spezifizität der Reaktion beeinflussen, so daß diese sozusagen mit jener zusammenfällt. Feinste Variationen der agglutinablen Substanz kommen im Immunprodukt zum Ausdruck. Wie bereits erwähnt, steht außer dem spezifischen Absorptionsversuch noch die gekreuzte Agglutination zur Verfügung, die solche feinste Unterschiede feststellen läßt; so werden z. B. Paracolibakterien aus dem Pferdedarm von Paratyphus- und von Hogcholeraseris in gewissen Höhen agglutiniert, aber die mit ihnen hergestellten Sera vermögen die Paratyphus- und Schweinepestbakterien nicht oder nur sehr gering zu agglutinieren (HUBER). Die Agglutination des Paracoli aus dem Pferdedarm ist also eine hohe Mitagglutination.

Die Spezifizität der Agglutination hängt somit ab:

1) Von der Bakterienart, insofern ob derselben ein typischer Rezeptorenapparat zukommt; fehlt ein solcher, so kann von der Agglutination als Arteigenschaft nicht die Rede sein.

2) Von dem die Antikörper liefernden tierischen Organismus, wobei sowohl Tierart als Individualität, normaler und kranker Organismus von Bedeutung sein werden.

3) Von der Höhe der Agglutinationskraft, von der Stärke des Hauptagglutinins, als dem Träger der Spezifizität, daher ist nur ein hochwertiges Serum zu verwenden.

Anhang.

Serodiagnostik verschiedener Bakterien und dazu gehöriger Krankheiten.

Typhusbacillus.

Für die Identifizierung der Typhusbacillen bildet die Agglutination mittels eines hochwertigen Immunserums von einem Titer von mindestens 1:10000—1:20000) das wichtigste Hilfsmittel. Minder-

wertige Sera (Bruns & Kayser) zu verwenden, empfiehlt sich nicht, weil ein solches, von z. B. 1:1000, noch Paracoliarten (Sternberg, Gräf, Busson) agglutinieren kann. Beim hochwertigen Typhusimmunserum von 1:20000 hat ein Mitagglutinin von 1:1000 keine deutung. Kranken- resp. Rekonvaleszentenserum darf zur Bakteriendiagnose nicht verwendet werden. Agglutination nahe zum Grenzwert sichert die Diagnose, doch schließen niedere Agglutinationswerte, selbst das Fehlen der Agglutination, die Zugehörigkeit eines Bacillus nicht aus, wenn die kulturellen und biologischen Eigenschaften für Typhusbacillus sprechen. Solche inagglutinable Typhusstämme zeigen manchmal in kurzer Zeit, nach 10—12 Bouillonkulturen (Courmont & Rochaix), nach R. Müller auf Rhamnoseagar, normale Agglutination. Die Verwendung von nach Porges[2] (S. 504) modifizierten Aufschwemmungen kann in kürzerer Zeit die Diagnose stellen lassen; eventuell Herstellung eines Immunserums mit einem solchen Stamm.

Die Gruber-Widalsche Reaktion.

Nach einer Zusammenstellung von Hofmann[1] (1902) fiel die Reaktion bei 2482 Fällen in 166 oder 6,7 Proz. negativ aus; in einzelnen Berichten ist das Verhältnis noch günstiger. So gaben Zupnik[1], Köhler[2], Rostoski, Breuer nur 1,1 bis 3,3 Proz. negative Resultate an, Kreissl mit Einrechnung auch der Fälle von sicher überstandenem Typhus 5,1 Proz., so daß die von Guérard auf Grund seiner Erfahrungen und denen von Cabot, Anders & Mc Farland, Stengel & Kneass berechneten 95 Proz. positiver Reaktionen in Amerika mit unseren Beobachtungen in Uebereinstimmung stehen würden. Die Verschiedenheit der Resultate in einzelnen Ländern — Widal nur 0,5 Proz. Fehldiagnosen, Durham dagegen 37,5 Proz. — ist vielleicht dadurch zu erklären, daß in Paris vorwiegend Typhus abdominalis vorkommt, in London auch viele typhusähnliche Erkrankungen, besonders Fleischvergiftungen mit Bac. Gärtner und Folgezuständen solcher häufig sind. Man darf eben nicht vergessen, daß die Agglutination beim Kranken eine biologische Reaktion ist, die von den verschiedensten Bedingungen nicht nur des Bakteriums, sondern namentlich auch des kranken Körpers abhängig ist. Dieselbe kann fehlen, sei es infolge Schwere der Erkrankung (vgl. Müller), sei es infolge von Mischinfektion, oder dieselbe tritt erst später im Verlaufe der Erkrankung auf. Nach Gaehtgens, Brion & Kayser, Kayser gelang die Reaktion in der ersten Woche in 75 Proz., in der zweiten in 90 Proz., in der dritten in 95 Proz. der Fälle. Sie kann mit der Krankheit aufhören, kann aber zuweilen noch Jahre nach derselben bestehen. So gaben schon Widal & Sicard[3], A. Hofmann, Uhlenhuth, Musser 1897 Fortbestehen der Reaktion nach 8, 10 und mehr Jahren an, was weiter wiederholt, so von Krause, Iversen, Brown & Crampton, Leliwa & Schuster (Familie vor 9 Jahren Typhus) etc. bestätigt wurde. Durch den ungleichen zeitlichen Eintritt der Reaktion sind die Angaben über Fehlen derselben nicht immer absolut; immerhin fand Gaehtgens unter 97 Fällen, bei denen die Typhusdiagnose durch den Bacillennachweis gestützt war, in 67 Proz. eine positive Reaktion erst nach wiederholter Untersuchung.

Die Mitagglutination auf Paratyphus A und B, auf Bac. Gärtner ist verschieden häufig; dieselbe wird auch in neueren Beobachtungen

(Grünberg & Rolly, Korte & Steinberg) mit ca. 70 Proz. für Paratyphus, bis 100 Proz. bei Gärtnerbacillen (allerdings nur 1:30 gerechnet) angegeben. Nach Schultz boten unter 305 Agglutinationen auf Typhus 80,3 Proz. keine Mitagglutination der anderen Bacillen. Gegenüber den älteren Angaben von hoher Beeinflussung des Paratyphus (Hünermann[1,2], Jürgens[1], von Drigalski, Conradi[1]) ja höher als des Typhusbacillus (Jürgens, Gräf, Grünberg & Rolly) führen Korte & Steinberg an, daß bei genauer Austitrierung der Endwerte dies nicht der Fall sei, sondern immer das Typhusagglutinin höher als die Mitagglutinine wären, was von Manteufel bestätigt wird, bereits auch von Jürgens, Kayser vermutet wurde. Mitagglutinine können zunächst auch allein auftreten vor dem Typhusagglutinin, sowohl auf Paratyphus B (Gräf, Poggenpohl, Grimm) als auf den Gärtnerschen Bacillus (Durham[7], de Nobelle, Liefmann u. a.), um wieder bei hohem Anstieg des Hauptagglutinins zu schwinden (Poggenpohl) oder auch allein bestehen zu bleiben (Thies) oder so hoch bleiben, daß sie als Hauptagglutinine erscheinen (Durham), woher Fehldiagnosen infolge fehlender oder ungenügender Widalscher Typhusreaktion stammen.

Außer der Mitagglutination für Typhusbacillen durch eine andere Infektion kommen auch Agglutinine einer früheren in Betracht. Trotz dieser möglichen Irrtümer, die doch nur einen kleinen Bruchteil ausmachen, ist die Reaktion für die Diagnose wertvoll, kann dieselbe erhärten in Fällen, wo sie ohne dieselbe zweifelhaft bleiben würde, so daß die Formulierung von Stern, dieselbe wäre ein Symptom, vergleichbar der Albuminurie zur Nephritis, zu wenig sagt; es ist noch immer den älteren Autoren wie Rostoski u. a. zuzustimmen, die die Reaktion als eines der Kardinalsymptome an erste Stelle stellen. Den Wert der Reaktion illustrieren solche Fälle, die sich, nachdem der Befund einer anderen Erkrankung eine Typhuserkrankung auf Grund der Reaktion ablehnen ließ, doch als Typhusinfektion herausstellten; z. B. Rostoski: hämorrhagische Nephritis, Dieudonné & Roepper: Pneumonie, der Fall Pechère & Heyer eines Phthisikers, bei dem in der Leiche sich nur tuberkulöse Veränderungen fanden, aus der Milz sich aber Typhusbacillen züchten ließen, Griffon: Bronchopneumonie, in der Milz Typhusbacillen, Chavigny, bei dem sich in der Lumbalflüssigkeit Typhusbacillen fanden; im Falle Kreissl, einer Malaria mit plasmodienhaltigem Blut, positiver Widalreaktion, entwickelte sich nach Heilung der Malaria der Typhus weiter. Endlich sind die Vorteile für den Nachweis abgelaufener, abortiver oder latenter (Naegeli) Fälle hervorzuheben; erstere sind überhaupt in keiner anderen Weise festzustellen. Wiederholt wird auch auf ihre Bedeutung zur Eruierung von chronischen und akuten Bacillenträgern hingewiesen (Dennemark, Eccard, Hecker & Otto, Cler. & Ferrazi, Klinger). Die Agglutinationskraft bleibt in der Leiche erhalten; Loele fand in 10 Proz. von nicht an Typhus Verstorbenen die Reaktion, aber nicht über 1:40.

Auf die Fehlerquellen wie Hemmungserscheinungen bei konzentrierten Verdünnungen frischen Serums, beschränkte oder mangelhafte Agglutinabilität des zur Untersuchung dienenden Stammes, ungenügend lange oder unzweckmäßige Beobachtung wurde bereits bei der Technik und S. 548 hingewiesen. Van Loghem[3] sah Hemmung des frischen Serums nur auf Typhus-, nicht auf Paratyphusbacillen.

Paratyphus und Fleischvergiftung.

Seit Erscheinen der ersten Auflage dieses Handbuches haben unsere Kenntnisse in dieser bis auf die Sonderstellung des Paratyphus B bis dahin noch recht unklaren Gruppe wichtiger Krankheitserreger eine ganz wesentliche Klärung erfahren.

Es ist nicht möglich, auf alle Arbeiten einzugehen. Ein großer Teil der Literatur ist bei Kutscher „Paratyphus" im I. und II. Ergänzungsband dieses Handbuches, ferner in Hübeners „Fleischvergiftungen und Paratyphus" zusammengetragen.

Ohne auf die mühsamen und zahlreichen Untersuchungen, die zum Teil mit der Agglutinationsmethode über die Zusammengehörigkeit oder Trennbarkeit der verschiedenen hierher gehörigen Bakterien durchgeführt worden sind, einzugehen, seien hier die Ergebnisse kurz skizziert. Die hierhergehörigen Bakterien gehören zwei Gruppen an: Gruppe I, die des Bacillus enteritidis Gärtner umfaßt außer diesem die Bacillen der Fleischvergiftungen von Moorseele und Gent (van Ermengem), von Brügge (de Nobele), von Rumfleth und Haustedt (Fischer), die Bacillen der Ruhr und Septikämie der Kälber (Paracoli Jensen), die Erreger der Rattenseuchen (Dunbar, Danysz, Ratinbacillus etc.), Bac. nodulifaciens bovis Langer. Gruppe II: Bacillus Paratyphus B Schottmüller, ferner die Bacillen der Fleischvergiftungen Breslau (Flügge-Kaensche), Meiselbeck (de Nobele), Düsseldorf (Trautmann), Sirault (van Ermengem), Aertryck (de Nobele), Neunkirchen (Drigalski) und Greifswald (Uhlenhuth), die sogenannte Salmonellagruppe, Hogcholera oder Schweinepestbakterien, der Erreger des Mäusetyphus, der Psittakose, der Pseudotuberkulose der Meerschweinchen, die Bakterien des seuchenhaften Abortes der Rinder und Pferde.

Diese beiden Gruppen lassen sich durch Agglutination scharf trennen, während eine Trennung innerhalb einer Gruppe nicht möglich ist; es besteht eine hohe verwandtschaftliche Beziehung der Bakterien einer Gruppe untereinander. Bei der Untersuchung von Krankheitsfällen spielen außer Agglutinabilität auch gewisse individuelle Eigenheiten eine besondere Rolle, die noch dadurch gesteigert werden, daß die zugehörigen Bakterien eine große Veränderlichkeit und Anpassungsfähigkeit an den tierischen Organismus besitzen, wodurch sie ja im Wesen eigentlich nur verschieden sind.

Paratyphus B. Die Bakteriendiagnose mit Hilfe der Agglutination erfolgt nach Trommsdorff, Kolle, Kutscher & Meinicke, Uhlenhuth usw. bei Anwendung eines hochwertigen Serums sicher und eindeutig, da die Mitagglutinine hierbei ganz unbedeutend sind.

Die Widalsche Reaktion verhält sich ganz ähnlich wie beim Typhus; sie kann überhaupt fehlen oder erst später auftreten, sie kann deutlich ausgesprochen sein, namentlich in der Rekonvaleszenz und ist dann besonders zur retrospektiven Diagnose verwendbar. Korte, Konrich, Kutscher, Heller etc. fanden $A_2 = 200$ und 500, selten 1000. Konrich fand starke Mitagglutination für Paratyphus A und Typhusbacillen, keine für Bacillus Gärtner, was differentialdiagnostisch gegenüber dem Verhalten bei Typhus charakteristisch ist, Erne auf Typhus- und Colibacillen negativ. Die Mitagglutinine sind meist niedrig (Kutscher), manchmal verschwindend.

So fand Ellermann bei 1:1000 und 1:3000 auf Paratyphus B für Typhusbacillen und Paratyphus A nur 1:50. Lentz, der ziemlich hohe Mitagglutinine bei Typhus und Paratyphus und umgekehrt fand, glaubt einen Unterschied in dem zeitlichen Ablaufen der Reaktion beobachtet zu haben, indem die Mitagglutination für Paratyphus nur langsam zustande komme, während die Hauptagglutination nach einer halben Stunde bereits eintrete; doch konnten Konrich, Kutscher dies nicht bestätigen, ja, sie fanden bei Paratyphus überhaupt langsames Zustandekommen der Reaktion, erst nach mehrstündigem Stehen bei Zimmertemperatur.

Da sich bei Paratyphus dieselben Nacherkrankungen, z.B. Cholelithiasis (Evers & Mühlens), auch chronische Bacillenträger finden (Brummond), so ist in den Gegenden, wo Paratyphus vorkommt, aus einer positiven Reaktion nicht sofort auf die Aetiologie der vorliegenden Krankheit zu schließen, ja, selbst der Nachweis in den Faeces kann bei dem Umstande, daß Paratyphusbacillen überhaupt nicht selten auch bei Gesunden ohne vorausgegangene Erkrankung in den Entleerungen vorhanden sein können, noch nicht für eine Paratyphusinfektion als sicherer Beweis gelten. Nach Gaehtgens soll Paratyphus häufig im Anschluß an Typhuserkrankungen vorkommen, auch im Anschluß an andere Erkrankungen (Uhlenhuth & Hübener). Zu erwähnen wäre noch, daß auch das Fickersche Paratyphusdiagnostikum sich bewährt hat.

Bacillus enteritidis Gärtner. Bezüglich der Widalschen Reaktion wäre hier zu bemerken, daß bei dieser Infektion die Mitagglutination auf Typhusbacillen gewöhnlich so ausgesprochen ist, daß dieselbe ein differentialdiagnostisches Moment gegenüber einer Paratyphuserkrankung B bildet. Die Agglutination für Typhusbacillen kann überhaupt höher und früher positiv ausfallen, als auf den Gärtnerschen Bacillus (schon von de Nobele beobachtet, ferner Liefmann, Rimpau), auch Svenstad sah Agglutination für Bacillus enteritidis 1:50, für Typhus 1:100. Ueberstandene Gärtnerinfektionen können daher Typhusagglutinine vortäuschen, womit sich die Fälle von positivem Gruber-Widal bei Personen, die weder an Typhus erkrankt, noch mit Typhuskranken in Beziehungen standen (Rimpau) erklären würden. Auch die künstlichen Immunsera von Kaninchen (Lebram, Kutscher & Meinicke u. a.) zeigen hohe Mitagglutinine für Typhus, während die auf Paratyphus A und B, Mäusetyphus und Schweinepest nur ganz gering sind. Der Castellanische Versuch trennt wieder das Typhusagglutinin deutlich vom Gärtnerschen.

Bacillus paratyphus A. Die durch diesen Bacillus hervorgerufenen Erkrankungen sind ganz selbständig und treten in ihrer Frequenz gegenüber den durch Paratyphus B sehr zurück. Nach Proescher & Roddy scheinen dieselben in Amerika häufiger vorzukommen. Von Nicolle & Carthoire wurde das Vorkommen in Tunis nachgewiesen. Während nach Schöne Mitagglutinine ausgesprochen (1:800, auf Typh. 1:600) sind, die bei höheren Serumwerten etwas zurücktreten (1:1200, auf Typhus 1:500), fehlen solche nach Nicolle bei 1:100 bis 1:500 auf Paratyphus A; sogar bei 1:2000 agglutinierte das Serum Typhusbacillen 1:10, höchstens 1:20. Bondi fand Mitagglutination für Paratyphus B 80—180:2000.

Da die Diagnose dieser Infektionen nur durch die bakteriologische Blutuntersuchung gestellt werden kann, so fällt der Agglutination

eine gewisse Bedeutung zu (Friedrich & Gardiewski [B. Gärtner], Baermann & Eckersdorff [Paratyphus A]).

Paratyphus C. Diese von Uhlenhuth & Hübener vom Paratyphus abgetrennten Bakterien, die meist aus Faeces und Urin von Menschen ohne Krankheitserscheinungen (Hübener & Viereck, Baumann, Marmann, Küster) kultiviert wurden, verhalten sich kulturell wie Paratyphus, werden aber von Paratyphusserum nicht beeinflußt, auch nicht von Gärtnerserum. Ob sie eine einheitliche Art darstellen, ist noch nicht festgestellt.

Bacterium coli.

Wie aus den ersten Untersuchungen von Achard & Bensaude[1], Bensaude, van de Velde[2], aus den späteren von Wolf, Smith, Rothberger, Jatta, Radziewsky, Durham und neueren von E. Meyer, Klieneberger, Geisse zweifellos hervorgeht, ist es beim B. coli ausgeschlossen, die Agglutination zur Identifizierung oder Zugehörigkeit zur Gruppe zu verwenden, auch nicht mit Hilfe eines polyvalenten Serums (Rothberger) noch für Stämme derselben Herkunft (Burri) oder eine biochemisch abgegrenzte Gruppe wie dem B. coli imperfectum (Burri & Andrejew) oder für pathogene, denn auch Klemens & Mahler, die wie Zupnik[1] für eine Gattungsspezifizität des Serums bei Coliinfektion eintreten, fanden nur in einem Falle von Colisepsis ein Serum, das von 32 Stämmen 12 in Verdünnungen 1:40—1:400 agglutinierte, bemerkenswerterweise den eigenen Stamm nur 1:80, in einem zweiten Falle wurden nur 2 Stämme agglutiniert. Zweifellos spielen hierbei die ganz unberechenbaren Normalagglutinine eine Rolle, die außer älteren Beobachtungen, auch in neueren (Klieneberger, Geisse) in hohen Verdünnungen (bis 1:2560) wirksam sein können (Autoimmunisierung?). Die Reaktion besitzt immer mehr oder weniger nur einen individuellen Charakter; dabei können kulturell differenzierbare Arten durch dasselbe Serum nahezu gleichwertig, bei biologisch identischen nur der homologe Stamm von einem hochwertigen Serum agglutiniert werden (Durham) und bei Aenderung biologischer Eigenschaften (erworbene Zuckervergärung) (G. Seiffert[2]), die Agglutination unverändert bleiben.

Der individuelle Charakter der Reaktion schließt jedoch nicht aus, daß der Reaktion des Krankenserums auf ein aus dem Kranken gezüchtetes B. coli eine ätiologische Bedeutung zukomme, wie bei den von Pfaundler[4] beschriebenen Fällen infektiöser Dickdarmentzündung bei Kindern, die von Lesage, Valagussa u. a. bestätigt wurde. Escherichs Colicolitis der Kinder ist durch diese Beziehung zwischen Blutserum und einem bestimmten B. coli aus dem Stuhl charakterisiert worden. Nur das infizierende Coli gibt die spezifische Reaktion, andere Darmcoli geben keine (Germano).

Auch bei Erwachsenen sind wiederholt Infektionen mit B. coli auf diese Weise konstatiert worden (Reaktion des Krankenserums auf ein aus dem Darm, der Blase, dem Blut gezüchtetes Coli). Nicht selten scheint in solchen Fällen ein nicht typisches Coli (Paracoli) vorgelegen zu haben, wie namentlich in der älteren Literatur; aber auch in der neuen finden sich solche Fälle, z. B. Widal & Nobécourt (Schilddrüsenabszeß), Meinicke & Neuhaus (Darm), Klieneberger (Gallenblase), Schöne (Bakteriämie nach gastrischem Fieber), das

Bact. haemolyt. von SCHOTTMÜLLER & MUCH (Kinderdiarrhöe), BOWMANN (Kinderruhr), BABES & FEODORASKO (typhöser Zustand), SCHÖNE (Paracoli aus Blase vom Krankenserum 1:300 agglutiniert), KLIENEBERGER (Paracoli, sehr zunehmende Agglutination) u. a. Doch auch da können sich diagnostische Irrtümer ergeben, wie z. B. im Falle von KIRÁLYFI, Typhuserkrankung ohne Widal, pneumonische Erscheinungen, aus dem Sputum ein Coli gezüchtet, das 1:180 vom Krankenserum agglutiniert wurde — Coliinfektion; dann wurden aus dem Blute Typhusbacillen gezüchtet. Die, wie erwähnt, unberechenbaren und in hohen Werten vorkommenden Normalagglutinine trüben die Beurteilung sehr; es gibt auch Coliinfektionen ohne Agglutinine. KLIENEBERGER bezeichnet es daher als eine undankbare Aufgabe, ein unbekanntes Serum diagnostisch zu untersuchen.

Dysenteriebacillen.

Nach MARTINI & LENTZ sind die Dysenteriebacillen, Kruse-Shiga und Flexner mit einem künstlichen Immunserum von mindestens 1:500 bis 1:600 analog wie Choleravibrionen oder Typhusbacillen sicher zu identifizieren; nach HAENDEL eignen sich aber Esel- und Pferdesera wenig, weil bei der Behandlung mit Shiga-Kruse hohe Mitagglutinine für Flexner- und Y-Stämme (nach LENTZ mit dem KRUSEschen Bac. der Pseudodysenterie der Irren identisch) entstehen, welche sogar den Titer für Kruse-Bacillen ums Mehrfache überragen können; Kaninchensera, auch Hundesera (AUCHÉ & CAMPAGNA) enthalten fast keine Mitagglutinine. Die Agglutination verläuft langsam, ist bei Shiga-Kruse nach HAENDEL erst nach 24 Stunden beendet. Flexner-Immunsera (Kaninchen) agglutinieren Y-Bacillen bis zur Titergrenze, umgekehrt werden Flexner-Bacillen hoch, doch nicht bis zum Grenzwert agglutiniert (LENTZ, LIEFMANN & NIETER, HAENDEL), so daß hier die Differenzierung der kulturellen Unterschiede maßgebender ist. AMAKO & KOJMA differenzierten 5 Typen auf diese Weise; M. WASSERMANN fand auch die Absorptionsmethode, welche zur Trennung von Shiga- und Flexner-Stämmen gut verwendbar ist, wie die Agglutination zur Differenzierung resp. Identifizierung der giftarmen Stämme wenig geeignet.

Die hohe Mitagglutination, welche Flexner- und Y-Bacillen durch Kruse-Serum erfahren, kann bei Außerachtlassung des kulturellen Verhaltens zu diagnostischen Irrtümern führen (SCHROETER & GUTJAHR).

So sicher sich die giftbildenden Ruhrstämme durch ein hochwertiges Immunserum identifizieren lassen, so ist dies jedoch nicht der Fall bei Verwendung von Kranken- oder Rekonvaleszentenserum, wie es aus der Geschichte des FLEXNERschen Bacillus hervorgeht, welcher auf Grund der von SHIGA, KRUSE, FLEXNER konstatierten Agglutinationsfähigkeit des Krankenserums (ca. vom 7. Tage an) mit dem SHIGA-KRUSEschen identifiziert wurde. Auch die späteren und letzten Untersuchungen von LENTZ, LIEFMANN & NIETER, KEMP & METZ, TH. MÜLLER[3], DOERR, KÄRGEL (ausführliche Literatur), THOMAS, SCHROETER & GUTJAHR ergaben, daß das Krankenserum bei Shiga-Kruse-Dysenterie sehr häufig hohe Mitagglutinine für Flexner- und Y-Bacillen enthält, nicht nur bis zur Titergrenze, sondern darüber (DOERR, KÄRGEL), so daß durchaus nicht der höchste Titer für den Krankheitserreger sprechen muß; der CASTELLANIsche Versuch (KÄR-

gel) fällt in dieser Beziehung eindeutig aus. Teilweise können die hohen Normalagglutinine für Flexnersche und Y-Bacillen diese Erscheinung erklären (Lentz, Doerr, Lüdke, Liefmann & Nieter).

Umgekehrt verhält es sich, wenn eine Erkrankung durch Flexner- oder Y-Bacillen vorliegt, hier fehlt eine Agglutination auf Kruse-Shiga meist vollständig (Jürgens, Liefmann & Nieter, Schroeter & Gutjahr) oder ist sehr gering (Doerr), wie auch Normalagglutinine auf Kruse-Bacillen selten vorkommen (Martin & Lentz, Doerr, auch Kruse) oder sehr niedrig sind (Lüdke). Einige Autoren, wie Jehle und Auché fanden im Krankenserum nur einseitige Agglutination. Die Agglutination der Shiga-Kruse-Bacillen ist nach Lentz erst nach 20 Stunden, die der Flexner- und Y-Bacillen nach 6 Stunden beendet.

Im allgemeinen hält man unter obigen Kautelen für Shiga-Ruhr eine Agglutination von 1:50, für Flexner- oder Y-Affektionen eine solche von 1:100 für beweisend (Fürth); wie Vedder & Duval bei den Kranken große Verschiedenheiten fanden, Fehlen trotz Bacillenbefund (Ruffer & Willmore bei herabgekommenen Leuten), so ergaben es auch die späteren Untersuchungen.

Bacillus proteus.

Nach Wolf soll B. proteus sich agglutinatorisch ganz ähnlich wie B. coli verhalten; Pfaundler[3], Wolf, Grassberger, Jochmann, Klieneberger fanden hohe Agglutinationswerte im Krankenserum für den aus dem Kranken gezüchteten Stamm, wodurch die ätiologische Bedeutung des Bacillus festgestellt ist. Nach Klieneberger wurden die menschlich pathogenen Proteus vulgaris-Stämme durch ein Testserum, hergestellt durch Immunisierung mit einem pathogenen Stamm, hoch agglutiniert; bei einem Titer von 10240 für den homologen Stamm wurden 2 andere bis 5120, ein dritter allerdings nur bis 640 agglutiniert; ob hierfür nur eine individuell verminderte Agglutinabilität vorliegt, wurde nicht erhoben. Nach Rodella wären unter Proteus noch verschiedene Arten zusammengefaßt, weshalb die Agglutination sich verschieden verhält. Haim fand in einem als Typhus angesehenen Krankheitsfall, bei dem Proteus vulg. aus dem Stuhle kultiviert wurde, Agglutination für Typhusbacillen und für Proteus bei 1:100. Mitagglutination auf Typhusbacillen wurde bei Proteusinfektionen mehrmals nachgewiesen (Lubowsky & Steinberg, Jochmann). Im Falle Brünnings (Bac. fluorescens proteus) war die Agglutination auf Typhusbacillen kräftiger als gegenüber dem Infektionserreger.

Bacillus influenzae.

Bei Immunisierungsversuchen gegen B. influenzae fand Cantani ein steigendes Agglutinationsvermögen bis zu 1:500; beim Menschen, bei normalen Meerschweinchen und Kaninchen 1:20, bei Hunden 1:300; Jehle fand bei Kindern, die eine Influenzabakteriämie nach Scharlach, bei Masern etc. hatten, $A_2 = 20$, die bei denselben Krankheiten ohne Influenza fehlte.

Bacillus pyocyaneus.

Bei Pyocyaneusinfektion wurde von Achard, Löper & Grenet (1902), von Eisenberg[2] (1903), von Klieneberger, Hirschberg, Voss,

Schlagenhaufer zum Teil hohes spezifisches Agglutinationsvermögen beobachtet. Escherich hatte in 2 Fällen ein negatives Resultat. Experimentell ist dieselbe von P. Müller[2] (1900) beobachtet worden. Eisenberg fand auch Agglutination auf liquefaciens fluorescens nicht nur in derselben Höhe 1:100, sondern sogar noch 1:200; er ist daher geneigt, auch für die Pyocyaneus-fluorescens-Gruppen eine Gruppenagglutination anzunehmen.

Kretz fand bei einem Falle von Typhus mit Phlegmone durch Eiterkokken und B. pyocyaneus neben Agglutination auf Typhusbacillen auch eine solche auf Pyocyaneus, aber sie schwand (1:10) bald nach Eröffnung des Abszesses. Hinterberg fand bei akuter Orchitis einen Titer von 1:1000, Klieneberger 1:2560, Voss und Schlagenhaufer halten 1:50 für die unterste Grenze.

Bacillus tetani.

Bordet[1], Achard & Bensaude fanden Normalagglutinin beim Pferde, nach J. Courmont & Julien nicht konstant. Sabrazès & Rivière fanden bei einem Kranken am 8. Krankheitstage Agglutination, ebenso bei einem infizierten Hunde; J. Courmont[3], Bensaude, Weinberg vermißten dieselbe. Bei künstlicher Immunisierung (Kaninchen) kann dieselbe 1:50000 erreichen (Courmont & Julien, von Behring bestätigt).

Anaërobe Bakterien.

Leclainche & Vallée fanden im Serum gegen Rauschbrand immunisierter Tiere (Pferde, Ziegen) ein starkes Agglutinationsvermögen, 1:3000; dasselbe war der Fall bei gegen Vibrio septique immunisierten, deren Serum auf junge Bouillonkulturen 1:15000, auch noch 1:30000 wirksam war. Nach Markoff wäre die Reaktion eine wichtige Methode, im konkreten Falle die Zugehörigkeit eines Erregers zum echten Rauschbrand zu erweisen.

Bachmann versuchte eine Identifizierung resp. Differenzierung von den dem malignen Oedem zugerechneten Bacillen, wobei der homologe Stamm hoch, die andern gering agglutiniert wurden; von einer Gruppe wurde kein deutlich agglutinierendes Serum gewonnen. Passini erhielt mit Zuckerbouillonkulturen des Bacillus der Gasphlegmone ein Serum, das denselben und die sporogene Varietät von Rinderserumkulturen spezifisch agglutinierte; Bac. putrificus Bienstock, der von diesem Serum nicht beeinflußt wird, liefert ein starkes Mitagglutinin auf die sporulierende Form der Gasphlegmonebacillen, nicht auf die asporogene. Nach Rocchi verhalten sich Bac. putrif. und Bac. butyr. dimorphus und B. but. asporogenes serologisch verschieden.

Pestbacillus.

Nach den ersten Mitteilungen über Agglutination der Pestbacillen durch das Serum Kranker von seiten der deutschen Pestkommission von Wyssokowitsch & Zabolotny, von Paltauf[3] bei in Immunisierung stehenden Pferden, wurde dieselbe eingehender von Vagedes, Klein, Kossel & Overbeck, Markl, Otto geprüft, vor allen besonders von Kolle & Martini die Spezifizität der Reaktion hervorgehoben und namentlich von Markl sowie Kolle als die für die Diagnose des Pestbacillus alle anderen Proben überragendste bezeichnet; sie

kann bei Verdünnungen 1:1000—1:6000 stattfinden. Sehr ausgesprochen ist beim Pestbacillus die Erscheinung, daß virulente Stämme ein höher agglutinierendes Serum liefern, und daß je weniger virulent dieselben sind, um so stärker dieselben beeinflußt werden; ferner die Abhängigkeit vom Charakter der Kultur; schleimige Kulturen werden schlecht (1:50) agglutiniert (Shibayama[1]), so daß die Agglutinabilität der Pestbacillen sehr schwanken kann. Die Spezifizität geht so weit, daß ein pestähnliches, rattenpathogenes Stäbchen (Neumann) von einem Pestserum, das Pestbacillen in der Verdünnung 1:200 agglutinierte, nur 1:10 agglutiniert worden ist, während es vom zugehörigen Serum einer Ratte in der Verdünnung 1:800 noch deutlich beeinflußt wurde. Nach Zlatogoroff soll eine Mitagglutination für den Bac. pseudotuberc. rodens. bestehen. Kolle & Strong, sowie Strong konnten bei mit abgeschwächten Kulturen, Signorelli bei mit Lustig-Galeottischem Nukleoproteid geimpften Personen Agglutinine nachweisen.

Kapselbacillen.

In der Gruppe der Kapselbacillen war die Agglutination lange Zeit entweder ganz negativ (Kraus, Clairmont, Defalle) oder nur in ganz beschränktem Maße, bei konzentriertem Serum (Landsteiner[2], Sicard, Kraus & Donath) nachzuweisen, daher differentialdiagnostisch nicht verwendbar (Wilde, Landsteiner[2], Clairmont). Fadenwachstum wurde von Kraus & Donath beobachtet, Klemperer & Scheier konnten mit einem Friedländerserum (Kaninchen) makroskopische Agglutination bei Wachstum in Bouillonaufschwemmung erzielen, Bertarelli erhielt teilweise aktive Sera, aber ungenügende Resultate. Porges[1] fand in Verfolgung seiner Untersuchungen über die Bedeutung der Bakterienproteine für die Agglutinabilität in den an solchen reichen Kapseln die Ursache der Inagglutinabilität. Durch Erhitzen einer Röhrchenaufschwemmung in 10 ccm ClNa mit dem vierten Volumteil einer $^1/_4$-HCl auf 80^0 C durch 15 bis 45 Minuten und folgender Neutralisation erhält man gut agglutinable Suspensionen; nach v. Eisler & Porges agglutiniert ein Friedländerserum die homologen Stämme, und läßt sich der Sklerombacillus differenzieren; Friedländersera waren Sklerombacillen gegenüber wirkungslos, Skleromsera geben eine geringe Mitagglutination auf Friedländerbacillen. Nach Streit sind trocken wachsende Stämme (eiweißfreiem Nährboden) agglutinabel, ja können Spontanagglutination zeigen, wie zu stark mit Säure behandelte.

Bacillus aërogenes.

Nach den Untersuchungen von Scheffler, Clairmont und nach einer Beobachtung Rothbergers scheint das Serum typisch nicht nur den homologen Stamm, sondern auch andere derselben Provenienz (Säuglingsstuhl) zu agglutinieren, von Bertarelli bestätigt.

Rotzbacillus.

McFadyean machte zuerst Mitteilung von der Agglutination der Rotzbacillen durch das Serum eines Kranken. Wladimiroff, Bourges & Merry, Pokchichevsky, Affanasieff, Moore & Taylor

fanden bei gesunden Pferden Agglutination bei Verdünnungen von 1:200—1:700, bei rotzkranken ist dieselbe allerdings gemeinhin gesteigert 1:1600, 1:2000, bei infizierten Kaninchen 1:300 (M. Müller) kann aber auch bei 1:200 fehlen; die relativ hochwertigen Normalagglutinine lassen sich von den relativ geringwertigen der Rotzsera durch Absorption mittels Kolloide oder Filtration nicht trennen (Andrajew). Eine Reaktion bei 1:300 wird als verdächtig angenommen; durch Injektion von Mallein wird die Agglutinationskraft gesteigert (Miessner), welcher Erscheinung nach Bonome eine spezifische Bedeutung zuzumessen wäre. Nach Hutyra ergeben sich bei negativem wie bei positivem Ausfall der Probe 20 Proz. Fehldiagnosen (kritisches Referat über die Anwendung des Agglutinationsverfahrens bei Rotz bei Pfeiler).

Beim menschlichen Rotz ist die Reaktion vielleicht spezifischer, gewiß bei den hohen Verdünnungen 1:500—1:2200, welche Montague-Heanley beobachtet hat. Foulerton sah in einem Falle aber nur 1:20.

Nach Kleine läßt sich von Ziegen oder Eseln leicht ein hochagglutinierendes Serum gewinnen, welches für die Identifizierung echter Rotzbacillen sogar notwendig ist, doch bestehen nach Schnürer Unterschiede in der Agglutinabilität. Als Testflüssigkeit werden filtrierte Phenolkochsalzaufschwemmungen von Agarkulturen empfohlen, wie Koch solche zu verwenden pflegt. Müller findet Gaehtgens Verfahren (Zentrifugieren) sehr empfehlenswert.

Diphtheriebacillus.

Nach den negativen Untersuchungen von Nicolas, Nicolle, Landsteiner, Bruno stellte zuerst Lubowski bei Immunisierung mit einem avirulenten Stamme ein spezifisches Serum her, welches 23 verschiedene typische Diphtheriestämme und 2 avirulente, aber keine Pseudodiphtheriebacillen agglutinierte. Schwoner zeigte in eingehenden Untersuchungen, daß durch Immunisierung mit abgetöteten, später mit lebenden Diphtheriebacillen beim Pferde ein hochwertiges agglutinierendes Serum 1:5000 und 1:10000 zu gewinnen ist, das eine glatte Differenzierung gegenüber Pseudodiphtheriebacillen erlaubt, also differentialdiagnostisch verwendbar ist. Dagegen bilden die Pseudodiphtheriebacillen keine einheitliche Art, doch zeigt eine Art, welche dem Hoffmannschen Typus entspricht, eine spezifische Agglutination; 6 hierher gehörige Stämme wurden durch das monovalente Serum agglutiniert; bei anderen sogenannten Pseudodiphtheriestämmen erfolgt nur Agglutination des homologen Stammes. Lipstein konstatierte gleichzeitig dieselbe differentialdiagnostische Bedeutung der Agglutination, die von Sartori bestätigt wird.

Tuberkelbacillen.

Nach Parks mißlungenen Versuchen, im Serum Tuberkulöser Agglutinine nachzuweisen, haben Arloing & Courmont im Jahre 1898 ein Agglutinationsverfahren an einer homogenen Kultur kennen gelernt, sie fanden dasselbe diagnostisch verwertbar. Die Agglutinationsfähigkeit des Serums ist nicht hoch. 1:5 wird bereits als spezifisch angesehen, sie steigt selten über 1:20. Nach einer Statistik von 186 Fällen war die Reaktion bei 106 klinisch-Tuberkulösen 96mal = 91 Proz. positiv, bei 60 Kranken ohne nachweisbare Tuberkulose

26mal = 33 Proz. und bei 20 Gesunden 6mal = 30 Proz. positiv; sie schließen außer auf die Verwertbarkeit der Methode auch auf die Häufigkeit der latenten Tuberkulose, wie sich dieselbe auch aus den Tuberkulinreaktionen ergibt (Beck bei 2137 Tuberkulinprüfungen mit Ausschluß sicher Tuberkulöser 1154 = 54 Proz. positive Reaktionen). Gegenüber den Bestätigungen durch Mongour & Buard, Bendix, Rothamel sind die ablehnenden Aeußerungen von Dubard, C. Fraenkel und von Beck & Rabinowitsch hervorzuheben; Fraenkel fand bei 15 Tuberkulösen 5mal = 33 Proz. positive Reaktion, bei 22 Nichttuberkulösen 5 = 22 Proz.; Bech & Rabinowitsch untersuchten 73 Fälle; 39 Tuberkulöse geben 11 = 28 Proz., 34 Nichtuberkulöse 12 = 35 Proz. positive Reaktionen. Ich ließ von den Herren Eisenberg & Keller außer klinischen Fällen auch das Blutserum von obduzierten Leichen untersuchen, da bei diesem Materiale die latente Tuberkulose wohl auf das höchste Minimum herabgedrückt sein müßte. Es ergibt sich:

60 klin. Fälle	17 Tuberk.	15—88	Proz.	pos.	2—12,0	Proz.	neg.
	52 Nichttuberk.	39—75	„	„	13—25,0	„	„
81 Sektionsfälle	28 Tuberk.	20—71,5	„	„	8—28,5	„	„
	50 Nichttuberk.	37—70,9	„	„	16—30,0	„	„

Die Resultate sind zu auffallend; in der 2. Gruppe ob tuberkulös oder nicht-tuberkulös ca. 70 Proz. positiv und 30 Proz. negative Reaktionen.

Daran ändern auch die neueren Zahlen Carrières nichts, welcher bei 88 Fällen von Lungentuberkulose (darunter 10 Fälle von Miliartuberkulose und 8 Fälle gallopierender Schwindsucht) 51—58 positive Reaktionen fand, bei 40 klinisch Nichttuberkulösen 22—55 Proz.; von Szaboki bestätigt Eisenberg & Keller.

Auch bei der Perlsucht hat die Reaktion keine diagnostische Bedeutung (Beck & Rabinowitsch), weil sie bei perlsüchtigen Tieren ebenso häufig ist wie bei nicht-tuberkulösen. Herstellungen von anderen Testflüssigkeiten geben an: Dubard, Koch (Kultur oder Neutuberkulin), Romberg (Präparat von Behring), A. Köppen (Verseifung der Kultur), Hawthorn, Vasilescu, Marzagalli, Kitajima, Rosenberger (säurefeste Bacillen). Außer den genannten Autoren negieren auch Koch, Romberg, Laudis die diagnostische Verwendbarkeit der Reaktion. Auch Marchetti & Stefanelli fanden die Reaktion bei sicherer Tuberkulose nur in 43 Proz. positiv; nach Forment fehlt dieselbe bei akuter Tuberkulose. Nach Grjsez & Job starben von den positiv reagierenden 62 Proz. später an manifister Tuberkulose, von den negativ Reagierenden noch 37 Proz. Fritzsche fand Agglutination von Tuberkelbacillen, aber auch einiger säurefester Bacillen und der Aktinomyceten durch das Serum tuberkulöser und nicht-tuberkulöser Meerschweinchen. Die Agglutination mit pleuritischen Exsudaten gab Levierato & Grossonini, entgegen Courmont, von 20 Fällen 9mal negative, 5mal positive Resultate bei nur 1:5. Es ist auch durchaus nicht erwiesen, daß die Reaktion spezifisch ist, im Gegenteil es erscheint höchst wahrscheinlich, daß die Agglutination des menschlichen Serums eine der normal vorkommenden, manchmal vielleicht pathologisch gesteigerten Mitagglutinationen ist. So fanden Eisenberg & Keller in einem Falle von Ikterus infolge von Cholelithiasis Agglutination der Arloingschen Kultur bei 1:500. Arloing & Courmont geben selbst an, daß auch das Blutserum von

Typhösen häufig ihre Tuberkelkultur agglutiniere, FERRAN konstatierte dasselbe und BESANÇON & SARBONNES fanden bei typhös und pneumonisch Erkrankten auffallend hohe Werte; damit würde auch in Uebereinstimmung stehen, daß das Serum Neugeborener (ROMBERG, RUITINGA, FORMENT unwirksam ist, daß bei Tieren, selbst bei Pferden, die so selten an Tuberkulose erkranken, eine hohe Agglutinationsfähigkeit des Blutserums für Tuberkelbacillen vorkommt (nach KOCH von 10 Pferden 8mal 1:25, 2mal 1:50); dieselbe Angabe macht DE GARCIA. M. LOEB hebt diese Tatsache auch hervor. Auf 56° C 1 Stunde erhitztes Serum soll keine Reaktion mehr geben (THELLUNG).

KARWACKI glaubt im Sputum spezifisch agglutinierende Substanzen nachweisen zu können (1:10—1:500 auf KOCHsche Lösung).

Wie bereits an einer anderen Stelle hervorgehoben, verhält es sich natürlich anders mit der Agglutinationskraft des menschlichen Serums, welche nach Injektion von Tuberkulin aufzutreten pflegt; diese benützt KOCH, bei der Tuberkulinbehandlung als ein Zeichen für die fortschreitende Immunisierung, was von RUMPF & GUINARD, MÖLLER & KAYSERLING, RUCK, GRÜNER und A. JESSEN bestätigt wird. Erstere finden Schwinden der Agglutination bei Besserung und Heilung und gehen so weit, die Entlassung der Patienten aus der Heilstätte davon abhängig zu machen; JESSEN, der 1:25 als niedrigst verwertbaren Titer angibt, machte analoge Beobachtungen. Nach GRÜNER geben nur die mit Bacillenemulsion behandelten eine Steigerung des Agglutinationstiters. Künstlich lassen sich beim Tier (Pferd, Kaninchen, Meerschweinchen) Agglutinine erzeugen. Nach HAWTHORN erzeugt ARLOINGS Kultur bei Meerschweinchen bessere Agglutinine als Bacillen vom Typus humanus; besonders hohes Agglutinin gibt nach CALMETTE & GUÉRIN die intravenöse Injektion von in Galle kultivierten Tuberkelbacillen bei Kälbern; auf solche Kulturen 1:2000, auf in gewöhnlicher Weise kultivierte Tuberkelbacillen von Rind oder Mensch allerdings nur 1:100, auf Hühnertuberkelbacillen 1:200, nach SOBERNHEIM gäbe das Rind kein Agglutinin.

Während verschiedene Male die Differenzierung der Tuberkelbacillen und der säurefesten Bacillen nicht gelang, FRITZSCHE in der gemeinsamen Agglutination derselben und verschiedener Arten von Aktinomyces eine Stütze für die Verwandtschaft dieser Arten gefunden zu haben glaubte, konnte SOBERNHEIM die Säugetiertuberkelbacillen von anderen Tuberkelbacillen und von säurefesten Arten agglutinatorisch trennen; menschliche und Rindertuberkulosebacillen unterscheiden sich aber so wenig (Pferdeimmunserum vom Typ. hum. agglutiniert Typus humanus 1:500—1:100, Typ. bovinus 1:200—1:500), daß eine Trennung nicht möglich ist.

Micrococcus melitensis (Maltafieber).

M. WRIGHT fand zuerst bei Soldaten, die teils Maltafieber überstanden hatten, teils noch daran litten, eine beträchtliche und spezifische Agglutinationskraft ihres Blutserums auf den Micrococcus melitensis BRUCE; die Agglutinationskraft schwankt zwischen 1:100 und 1:1000 und darüber; das Serum reagiert nicht namhaft auf Typhusbacillen (völlige Unabhängigkeit nach ROUXLACROIX) und andere pathogene Bakterien (WRIGHT, KRETZ, dagegen NEGRE & RAYMOND namentlich bei frischen Seris), erlaubt daher Differentialdiagnose und die

Diagnose (Wright & Semple, Bryant, Durham[2]) dieser sonst an positiven diagnostischen Merkmalen armen Krankheit; dadurch wurde die Kenntnis einer viel weiteren Verbreitung der Krankheit als auf die Mittelmeergegenden sehr gefördert, so von Wright & Smith für Indien, von Musser & Sailler für die westindischen Inseln, von Kingoum auch von der Karaibischen Küste; so wurde die Krankheit bei den amerikanischen Soldaten auf Manila konstatiert (Strong & Musgrave, Curry), ferner außerhalb des endemischen Gebietes bei Kranken aus solchen Ländern mit chronischen Fiebern (Fall Kretz, Neusser, ferner Brunner, Aldridge, Zammit, Fitzgerald & Ewart, Werner, Kennedy). Pollaci fand bei Kranken 1:50—1:5000, gewöhnlich 1:150—1:600; Lagrifoul & Royer fanden nach 4 Jahren noch 1:30 positiv. Nach verschiedenen Beobachtungen französischer Veterinäre wäre die Agglutination auch für die Erkrankung von Haustieren, namentlich Schafen und Ziegen, an Maltafieber charakteristisch (Dubois), ebenso nach künstlicher Infektion (Conor).

Mitagglutinine auf Microc. melitensis bei anderen Erkrankungen scheinen nicht häufig zu sein. Während Negre & Raymond bei fiebernden, bei Typhuskranken höhere Agglutinationswerte (frisches Serum!) für Microc. melit. fanden, erklärt Rouxlacroix die völlige Unabhängigkeit in Vorhandensein des Agglutinins für Typhus und für Maltafieber, Evangelista bei 32 Tuberkulösen die Reaktion 30mal negativ entgegen Critien & Konrich. Doppelinfektion von Typhus und Maltafieber: Dreyer, Lagrifoul & Roger und Arnal.

Die Untersuchungen von Konrich bestätigen die Spezifizität des künstlichen Immunserums, gleichzeitig aber auch das Vorkommen hoher Normalagglutinine im menschlichen Serum, 1:200, auch einmal 1:500, wogegen andere nur sehr niedere Werte fanden, so Kretz bei Untersuchung von ca. 30 Menschensera nur 1:15 bis höchstens 1:30, ebenso Neusser, Werner (1:20). Die Forderung Konrichs, daß bei nicht sehr hohen Agglutinationswerten nur aus einem Wechsel der Agglutinationshöhe bei mehrmaliger Untersuchung die Diagnose auf Maltafieber gestellt werden könne, hat durch seine Befunde Berechtigung und wird sich gegebenenfalls auch leicht erfüllen lassen, da starke Schwankungen der Agglutinationshöhe gerade bei dieser Krankheit bekannt sind (Bird & Lamb), Kennedy, auch bei den Tieren (Dubois); bei der Vaccinetherapie tritt Anstieg der Agglutinine ein (Kennedy). Die Agglutinationskraft des Serums kann jahrelang die Krankheit überdauern (Eyre).

Streptokokken.

Die älteren Untersuchungen von Achard[2], Bensaude, van de Velde[4], Bordet[3] konnten keine Gesetzmäßigkeit finden, die späteren stimmen mehr oder weniger darin überein, daß die Agglutination der Streptokokken sehr von ihrer Herkunft, und zwar bereits von verschiedenen menschlichen Krankheitsprozessen abhängig ist, die dann durch Tierpassage weiter variiert werden. Van de Velde gab zuerst an, daß das Immunserum nur den homologen Stamm agglutiniere, was Moser (Kraus[3]) bestätigen; auch nach Fischer, Kerner, Camisa (Chorea minor) wird der homologe Stamm am stärksten beeinflußt, andere weniger, Scharlachstreptokokken aus Abszessen, nicht aber die aus dem Blute. J. Mayer[1] glaubte die Streptokokken durch

die Agglutination in zwei Gruppen, die der Anginen und die der pyogenen Infektionen trennen zu können; MOSER & PIRQUET fanden spezifische Agglutination der Scharlachstreptokokken durch ein homologes Immunserum von Pferden 1:1000—1:4000, während sie, wie MOSER zeigte, von einem mit pyogenen Streptokokken hergestellten Immunserum von Pferden nicht beeinflußt werden. Bereits GRÜNBAUM[2], später SALGE & HASENKNOPF, MOSER & PIRQUET haben auch Agglutination des Blutserums von Scharlachkranken und Rekonvaleszenten nur auf Scharlachstreptokokken bis 1:500 und darüber gefunden. Nach JOGICHESS sollen auch andere Streptokokken durch Scharlach(Rekonvaleszenten)serum agglutiniert werden.

Eine ebenso spezifische Agglutination wie bei Scharlach finden DE WAELE & SUGG für die bei Variola konstant sich findenden Streptokokken durch Serum und andere Flüssigkeiten (Blaseninhalt, Ascitesflüssigkeit) der Kranken und Rekonvaleszenten 1:400—1:800, während andere Streptokokkensera (MARMOREK, ARONSON, DENYS, MOSER) unwirksam sind. Analog, d. h. spezifisch, verhalten sich Mäuse-, Kaninchenstreptokokken, indem sie durch das homologe Serum agglutiniert werden, unabhängig von ihrer ursprünglichen Abstammung; daher kommen ARONSON, NEUFELD zu dem Schlusse, daß alle Streptokokken von einem Serum beeinflußt werden. NEUFELD, der das verschiedene Verhalten des Scharlachstreptokokken-Immunserums gegenüber Scharlach-Streptokokken und anderen bestätigt, möchte nur Unterschiede der Virulenz als Ursache annehmen; doch spricht alles dafür, daß die Streptokokken im Tierkörper analog wie sich die Virulenz ändert (Verlust derselben für den Menschen, wie zuerst KOCH & PETRUSCHKY nachweisen) auch eine Aenderung des agglutinogenen Rezeptorenapparates erfahren, wie derselbe allem Anscheine nach auch durch die menschlichen Erkrankungen (Eiterung, Scharlach, Variola) beeinflußt wird. Derselbe Scharlach-Streptococcus, welcher zuerst nur durch ein mittels Scharlachstreptokokken (ohne Tierpassagen) hergestelltes Immunserum agglutiniert wurde, wird durch dasselbe nicht mehr agglutiniert, wenn er durch Kaninchen passiert wird, wohl aber von einem mit kaninchenpassierten Streptokokken, auch pyogener Abstammung gewonnenen Serum. ŽELENSKI fand auch starke Beeinflussung durch Normalsera. Damit steht auch in Uebereinstimmung, daß saprophytische und pathogene Streptokokken durch die Agglutination nicht zu unterscheiden sind (FISCHER).

Die Herstellung der Emulsion bietet nicht selten Schwierigkeiten; oftmaliges Schütteln eventuell mit Porzellankügelchen (VAN DE VELDE, ARONSON, SCHWONER), Zerreiben im Achatmörser mit Natronlauge und nachträgliche Neutralisierung (SALGE & HASENKNOPF) werden empfohlen; vgl. auch FISCHER, KERNER, PFEILER.

Staphylokokken.

W. KOLLE & R. OTTO haben festgestellt, daß ein mit menschenpathogenen Staphylokokken hergestelltes hochwertiges Serum echte Staphylokokken in einer Verdünnung von 1:100 meist bis zu 1:1200 agglutiniert, während andere aus der Luft stammende Staphylokokken nicht beeinflußt werden, so daß eine Differenzierung der pathogenen und saprophytischen Kokkenarten möglich ist, von PRÖSCHER, von KLOPSTOCK & BOCKENHEIMER, TRINCAS bestätigt; von NICOLAS &

Lesieur existiert eine ältere Angabe über ein an der Ziege hergestelltes Serum, daß von 3 Stämmen nur den aus einer Osteomyelitis stammenden, nicht den von einer Adenie agglutinierte.

Silvestrini fand bei menschlichen Infektionen, ebenso Mantegazza Agglutinine im Krankenserum, jedoch nur bei schweren Infektionen in der Periode der Besserung und Heilung; bei leichten umschriebenen Infektionen fehlen sie.

Amberger untersuchte das Serum eines Falles von chronischer Osteomyelitis, welches den betreffenden Stamm von Staphylococcus aureus 1:200 agglutinierte, ebenso 5 Stämme anderer Herkunft, einen Stamm agglutinierte es 1:400, weitere Stämme nicht einmal 1:20. Trotzdem von diesen beiden letzteren Stämmen einer zur Immunisierung einer Ziege verwendet worden war, vermochte dieses Immunserum den Osteomyelitisstamm noch 1:3200 zu agglutinieren. Aus dieser Beobachtung schließt Amberger auf eine Pluralität der Rezeptoren, wodurch die Verschiedenheit der bei Immunisierung mit Staphylokokken entstehenden Agglutinine bedingt wird. Aus diesem Grunde werden nur Schlüsse gestattet sein, wenn die Agglutination mit einem hochwertigen, polyvalenten Immunserum deutlich ausfällt. Daneben sind immer Kontrollen ohne Serum und mit Normalseris notwendig (Kraus & Löw). Würde die Beobachtung Ambergers für die mögliche Serodiagnose von Staphylokokkenerkrankungen sprechen, so ist der Nachweis von spezifischen Agglutininen in eigens darauf gerichteten Untersuchungen (Beitzke, Bruck, Schultz & Michaelis, Coenen) keineswegs in allen Fällen von Staphylomykosen gelungen.

Pneumokokken.

Wie in der Einleitung angeführt, wurden Agglutinationsphänomene bei Pneumokokken schon frühzeitig von Metschnikoff beobachtet; Besançon & Griffon, Huber, Neufeld, Jehle, Gargano & Fattori, Amy Kindborg haben das Serum bei Pneumoniekranken und bei immunisierten Tieren untersucht. Nach Kindborgs eingehenden Untersuchungen agglutiniert das Immunserum spezifisch den homologen Stamm 1:250—1:500, während andere Stämme nur 1:10 beeinflußt werden; bei Kranken tritt die Reaktion gegen die Zeit der Krise, auch früher, bei Kindern schon am Beginne auf; sie erreicht keine besondere Höhe; 1:50 ist nach Neufeld bereits ein hoher Wert, der rasch verschwindet. Jehle fand relativ hohe Werte, 1:160 bis 1:320. Avirulente Stämme werden nicht agglutiniert (Neufeld). Die Agglutination zeigt mikroskopisch bekanntlich lange und verschlungene Ketten, die sternförmige Figuren bilden (Kindborg). In alkalischer Traubenzuckerlösung (Heyrowsky) kultiviert, sind Pneumokokken viel besser agglutinabel.

Meningococcus intracellularis.

Die Identifizierung des Weichselbaumschen Meningococcus ist nach Weichselbaum, Ruppel, Albrecht & Ghon, Fischer[2] mittels hochwertiger Sera möglich; dann agglutiniert nach Fischer das Serum die homologen Stämme in starken Verdünnungen, den Jägerschen nur in stärkeren Konzentrationen, lange nicht bis zum Grenzwert, ebenso umgekehrt Jäger-Serum von 1:10000 den Meningococcus nur 1:50. Als Kautele ist es notwendig, die Kontrollen mit Normalserum

anzustellen, um die durch solches agglutinablen Stämme auszuschalten, wie es bereits Kolle & Wassermann angegeben haben, ferner 24-stündige Dauer und 55° C Temperatur; dagegen halten Eberle, Onaka wegen der großen Differenz der Agglutinabilität der verschiedenen Stämme, die Agglutination weder hinsichtlich der Diagnose noch der Identifizierung für ausschlaggebend; die Agglutination desselben Stammes durch verschiedene Sera kann von 1:100—1:500 schwanken.

Für die Agglutination von Krankenserum verlangt Mac Gregor eine Kokkenemulsion, die bei 1:5 Normalserum nicht agglutiniert wird; bei schweren Fällen, die sich aber nach 7—10 Tagen bessern, findet sich Agglutination bis 1:100; sie fehlt völlig bei akutem und bei chronischem fieberhaften Verlauf. Nach Netter & Debré sollen Abortivfälle mit klarer Cerebrospinalflüssigkeit nach 1:200 agglutinieren. (Liquor agglutiniert nicht.)

Vibrio cholerae asiaticae.

Pfeiffer, Kolle[5] und Vagedes haben festgestellt, daß die Agglutinine des künstlichen Choleraimmunserums in höheren Verdünnungen höchst spezifisch sind, so daß es immer gelingt, die echten Choleravibrionen eindeutig zu differenzieren; die Angaben von Gruber & Durham[1], daß Vibrio berolinensis und Choleravibrio gleichmäßig und wechselseitig agglutiniert werden, wurden am Internistenkongreß 1896 von Pfeiffer[2] bereits dahin aufgeklärt, daß dieser Stamm Vibrio berolinensis ein echter Cholerastamm ist. Prausnitz, Kolle & Gotschlich konstatieren denn auch, daß sämtliche Cholerakulturen, die von einem echten Choleraserum agglutiniert wurden, sich immer auch einem anderen echten Choleraserum gegenüber gleich verhalten, daß sie nie vom Serum eines choleraähnlichen Vibrios oder umgekehrt choleraähnliche Vibrionen von den spezifischen Verdünnungen eines echten Choleraserums agglutiniert werden. Die ausgedehnten auf über 1000 Agglutinationsversuche sich erstreckenden Versuche Kolles und seiner Mitarbeiter Hetsch, Lentz und Otto bildeten die Grundlage, daß die Methode vom Kgl. Preuß. Ministerium für die bakteriolytische Feststellung der Cholerafälle vorgeschrieben worden ist. In der von R. Koch, M. Kirchner & Kolle verfaßten Anleitung hierzu sind die Probe im hängenden Tropfen und die quantitative Auswertung im Reagenzglase (vgl. Kap. III) als zulässig angegeben. Auch die durch die hämolytischen und toxischen Eigenschaften (R. Kraus) vom Typus abweichenden Stämme (El Tor) werden typisch agglutiniert. Doch wäre zu bemerken, daß nur hochwertige Sera alle Vibrionen in annähernd derselben Höhe agglutinieren; bei minderwertigen Seris kommt es vor (Kraus, Hammerschmidt & Zeki), daß sich Gruppen abtrennen, z. B. agglutinierte ein Serum mit Kamaran-Stämmen nur diese, und nicht die Vibrionen aus der Epidemie 1910 und umgekehrt. Meinicke, Jaffé & Flemming fanden auch, daß die Absorption der Agglutinine durch einzelne Stämme höchst variieren kann, so kann der eine alles Agglutinin für alle Stämme, der andere nur das für ihn passende absorbieren, es bleibt aber noch für andere Vibrionenstämme Agglutinin bis 1:5000 erhalten. Frisch gezüchtete Stämme werden gemeinhin sehr gut agglutiniert (Haendel & Woithe, Kraus & Müller); Friedberger & Luerssen beobachteten Spontanagglutination.

Die Angabe von Zlatogoroff von der Inagglutinabilität und einer notwendigen Umzüchtung von aus Wasser kultivierten Vibrionen wird von Haendel & Woithe, Kölisch bestritten; weder erreichen inagglutinable Vibrionen aus Wasser auch nach wiederholten Umzüchtungen Agglutinabilität, noch konnte bei echten Choleravibrionen in dieser Weise Herabsetzung erzielt werden.

Bezüglich der Agglutination durch Blutserum der Kranken oder Rekonvaleszenten liegen außer älteren etwas zweifelhaften Beobachtungen von Achard & Bensaude (bereits am 3. und 4. Tag der Erkrankung Agglutination 1:20, die aber nach Pfeiffer & Kolle auch durch Normalseris erfolgt) nur spärliche Angaben von Karwacki, Kopp, Svenson, Bürgers vor; die Agglutinine treten erst um den 10. Tag auf, durchaus nicht bei allen (nach Svenson bei $^1/_3$) und erreichen 1:200 (Karwacki); Bürgers sah bei Kranken gar keinen oder niedereren Titer als bei gesunden Personen, die Vibrionen im Stuhle hatten; Tokunaga fand bei Cholerаträgern Agglutinine bis 1:40; nach Seruminjektion beobachtete Kopp Agglutination 1:100, die nach 10 Tagen verschwunden war.

Unter den choleraähnlichen Vibrionen hat Prausnitz, der das riesige Material von 165 Stämmen verarbeitete, auf Grund der Agglutinationsverhältnisse 11 Gruppen aufgestellt.

Von anderen bakteriellen Infektionen wäre noch anzuführen, daß nach Seifert, Klimenko der Bacillus des Keuchhustens von Bordet-Gengou mittels eines Immunserums spezifisch agglutiniert wird 1:1000 Seifert, 1:500 ein Hundeserum von Klimenko. Bächer & Menschikoff empfehlen das Komplementbindungsverfahren. Nach Seifert agglutiniert das Krankenserum 1:16—1:32.

Bei der Lepra wiesen Sugai, Gaucher & Abrami eine Art Agglutination des Serums auf Emulsionen aus erweichten Lepromen (Gaucher) oder überhaupt aus Hautknoten (Sugai) nach, die bei Verwendung anderer Sera, auch nicht von 4 Fällen von Syringomyelie (Gaucher) nicht eintrat; das Krankenserum reagierte auf Typhus- und Colibacillen nicht.

Unter den verschiedenen Fällen, in denen ein aus dem Stuhl oder Urin gezüchtetes Stäbchen mit dem Krankenserum spezifisch agglutinierte, finden sich auch solche mit Bac. faecalis alcaligenes; Ridder beobachtete Agglutination 1:500, Lafforgue 1:150, bei dem im Verlaufe eine Mitagglutination auf Typhusbacillen auftrat, die Doebert auch bei künstlichen Immunseris und umgekehrt auch bei Typhusseris auf Alcaligenes (entgegen Petruschky) fand.

Sporotrichose — Aktinomykose.

Widal fand in einer Emulsion von Sporen von Sporotrichum Beurmanni, mit Formol konserviert, eine agglutinable Flüssigkeit die durch Serum von an Sporotrichose leidenden Menschen 1:200—1:400 deutlich agglutiniert wird, und auch durch Sera von Soor- und Aktinomyceskranken; Favus-Trichophytie und andere Dermatomykosen geben keine Agglutination; Sporen von Oidium werden von Soorserum nur schwach agglutiniert (1:10—1:50) (Widal, Abrami, Joltrain, Brissaut, Weil, „Serodiagnostic mycosique"). Jeanselme bestätigte den Befund für Sporotrichose (1:300—1:500). Roux-lacroix et Wyse-Laufun glauben in einem unklaren Falle die Dia-

gnose auf Grund einer Agglutination von 1:20 stellen zu können, wie auch Bloch die Reaktion differentialdiagnostisch gegenüber luetischen und tuberkulösen Hautaffektionen für wichtig erklärt. Rothe bestätigte die Agglutination für Aktinomyceskranke und hält die Reaktion für diagnostisch wertvoll, da weder normale Sera noch von anderen Kranken dieselbe geben.

Hefe.

Bisserie versuchte durch die Agglutination Unterschiede zwischen der Bierhefe und Weinhefe zu finden, doch agglutinierte Kaninchenserum beide Arten reziprok in derselben Verdünnung 1:200. Dieselben negativen Resultate ergaben sich Malvoz für eine Wein- und eine Bierhefe, sowie für einige pathogene Hefen und A. Schulze bezüglich obergäriger und untergäriger Getreide- und Kartoffelhefen. Malvoz bemerkte leichtere Agglutination bei den Gärungshefen durch ihre Sera gegenüber den pathogenen Hefen. Hedon fand die Hefe-Immunsera nur in stärkerer Konzentration wirksam, wogegen das Serum von Bisserie bei 1:200 agglutinierte; Malvoz erzielte durch Immunisierung von 3 Monate der Autolyse unterworfener Weinhefe ein agglutinierendes Serum 1:80; auch die digerierten Hefezellen werden ebenso wie mit Eau de Javelle behandelte, agglutiniert.

Brouha hat das Serum von Krebskranken auf Agglutination gegenüber der als Ursache solcher Neubildungen in Anspruch genommene Hefen (Curtis, Sanfelice, Plimmer) mit negativem Erfolge geprüft. Sanfelice findet darin keinen Einwand, denn er konnte im Serum seiner Versuchstiere auch keine Agglutinine nachweisen.

VII. Die bei der Reaktion beteiligten Substanzen.

a) Die agglutinable (agglutinogene) Substanz.

In Anlehnung an die Untersuchungen E. Buchners über Gärung durch Zymase, dem verflüssigten Anteil der Hefezellen, konstatierte zuerst R. Kraus[2], daß in keimfreien Filtraten aus Cholera-, Typhus- und Pestbouillonkulturen, sowie in dem ausgepreßten Preßsafte, in dem schwach alkalischen Extrakte getrockneter Cholera- und Pestkulturen Substanzen enthalten sind, welche bei Zusatz von Immunserum unter Niederschlagsbildung reagieren. Nicolle, ferner E. Lewy & H. Bruns, Rodella u. a. fanden, bestätigt von Winterberg, Pick, Brieger & Schütze, Brieger & Mayer in vielfach modifizierten Versuchen, Rodet & Lagriffoul, Kraus & Joachim, Neisser & Shiga, daß auf Immunisierung mit solchen keimfreien Filtraten von Typhus, Cholera, Proteus und Pyocyaneus Agglutinine entstehen, ja, daß sich dieselben auf Applikation minimaler Mengen entwickeln. Damit war der Nachweis agglutinogener Körper in den Kulturfiltraten gegeben und ihre koagulable Eigenschaft ließ in ihnen die koagulablen Anteile des Bakterienkörpers, die agglutinable Substanz nicht nur vermuten, sondern bei den gekannten Wechselbeziehungen auch mit Berechtigung annehmen.

Nicolle fand die aus alten Kulturflüssigkeiten gewonnene Substanz in Alkohol und Aether löslich, als sehr widerstandsfähig gegen hohe Temperaturen; sie wird erst bei 115° zerstört, und ist widerstandsfähig gegen Trypsin. Im Gegensatze hierzu fand Winterberg

die koagulable Substanz der Kulturfiltrate im Alkohol unlöslich, und gegen Erhitzen nicht so widerstandsfähig, wie jene Nicolles. Die weiteren Untersuchungen erklärten die Widersprüche. So fand Pick zunächst zwei Bakterien-Koaguline, das eine, als A, die durch Alkohol fällbare Substanz alter Typhusbouillonfiltrate, das andere, als K bezeichnet, das in Alkohol lösliche Kochsalzextrakt junger Typhuskulturen. Dieses wird durch 95-proz. Alkohol nicht gefällt, gibt keine Biuretreaktion, zumeist auch keine Millonsche Reaktion, weder Uranacetat noch Urannitrat bringen eine Fällung hervor; auch die Reaktion nach Molisch, die Schwefelbleiprobe und selbst Kochen mit verdünnter Salzsäure liefern ein negatives Resultat. Bleizucker in Ueberschuß erzeugt eine flockige Fällung; durch Wiederlösung in schwacher Sodalösung und durch Dialyse, wobei die Substanz nur zum geringsten Teil die Membran passiert, gelang eine teilweise Reinigung. Der negative Ausfall der maßgebenden Eiweißreaktion spricht dafür, daß diese Substanz kein Eiweißkörper im gewöhnlichen Sinne ist, weder eine Albumose, noch ein Pepton, noch ein Nukleoproteid sein kann. Anders verhält es sich mit der Substanz A, welche durch die gleichzeitig extrahierten Produkte des Nährbodens allerlei Eiweißreaktionen aufwies, die Biuretreaktion, die Millonsche Reaktion usw. Die Lösung enthielt kein durch Hitze koagulables Eiweiß, wohl aber bei $^1/_2$ wie $^2/_3$ und voller Ammonsulfatsättigung aussalzbare Albumosen; durch wiederholten Zusatz von 95-proz. Alkohol zu dem mit Ammonsulfat gesättigten Filtrat konnte ein klebriger, schleimiger Körper erhalten werden, dessen wässerige Lösung keine Biuretreaktion, wohl aber leichte Reaktion nach Millon gab. Es ist demnach auch die Substanz A nur den weitabliegenden Eiweißspaltungsprodukten zuzurechnen. Diese Lösung, sowie die Lösung des Körpers K, erzeugte im Typhusimmunserum in kurzer Zeit einen spezifischen Niederschlag. Das verschiedene Verhalten der beiden Koaguline dem Alkohol gegenüber in den Angaben Nicolles und Winterbergs, erklärt sich, indem letzterer alte Bouillonkulturfiltrate untersuchte, welche den in Alkohol unlöslichen Körper A enthalten, während Nicolle aus jungen Typhus- und Colikulturen analog dem Kochsalzextrakte Picks einen in Alkohol löslichen Körper in Händen hatte. Rodet & Lagriffoul fanden die durch Alkohol fällbaren und in Alkohol löslichen Substanzen sowohl der Bakterien als der Koaguline der Flüssigkeiten agglutinogen, ebenso Pribram, s. S. 602. Da die agglutinable Substanz als ein von den Eiweißkörpern weit abliegendes Derivat zu betrachten ist, schloß E. Pick, daß der größte Teil des Eiweißniederschlages bei der Reaktion vom Immunserum herstammt, daß der aktive, bei derselben beteiligte Teil die präzipitable s. agglutinable, oder präzipitogene resp. agglutinogene Substanz sei, während die sogenannte präzipitierende des Serums den passiven Teil vorstellt. Für die Präzipitation empfiehlt sich auch diese Nomenklatur; bei den Agglutininen tritt dieses Verhältnis jedoch nicht hervor; da auch durch stark verdünntes Immunserum noch immer dieselbe Menge von Bakterien agglutiniert wird, erhält sich hier der ursprünglich gewonnene Eindruck, daß das Serum der aktive Teil bei der Reaktion wäre. Indifferent ist die Beziehung „agglutinogene" Substanz, welche in der Folge gleichbedeutend mit „agglutinabler" gebraucht wird.

Beide Koaguline (A und K) konnten nach Pick 5—10 Minuten über freier Flamme gekocht werden, und sind sehr widerstandsfähig

auch gegen heißen Alkohol und Aether, gegen Fäulnis, gegen die Verdauungsfermente Pepsin und Trypsin, ja, selbst die Einwirkung von Säure und Alkali in der Hitze konnte die physiologische Wirkung kaum beeinflussen; 2 ccm der Lösung durch einige Minuten mit 10-proz. Salzsäure oder mit konzentrierter Natronlauge über freier Flamme gekocht, abgekühlt, neutralisiert, ergab mit 1 ccm Typhusimmunserum einen mäßig grobflockigen Niederschlag, während dieselbe Lösung mit Choleraimmunserum versetzt klar bleibt. Nach Friedberger & Moreschi enthalten Typhusbacillen, auf 120^{0} trocken nach Löffler erhitzt, sehr wirksames Agglutinogen. Die hohe Widerstandsfähigkeit zeigt sich auch im Verhalten gegen Antiformin, welches, wie Uhlenhuth & Xylander gezeigt haben, die verschiedenen bakteriellen Gifte zerstört, während bei der Auflösung der Bakterien sowohl die koagulable Eigenschaft der mit H_2SO_4 neutralisierten Flüssigkeit (Koneffs „Mallease“ der Rotzbacillen) als auch die agglutinogene Wirkung erhalten bleibt.

Außer diesen beiden Koagulinen A und K, die sich durch Alkoholfällung trennen lassen, ließ sich noch eine koagulierbare Substanz der Bakterienleiber nachweisen, indem die mit Kochsalz extrahierten, abzentrifugierten Typhusagarkulturen noch immer bei Zusatz von Typhusimmunserum momentane Agglutination zeigten, selbst wenn die Extraktion zehnmal hintereinander wiederholt wurde, bis Waschflüssigkeit mit Typhusimmunserum versetzt, keine Spur einer Niederschlagsbildung mehr aufwies. Es würde demnach die Agglutination der Bakterien unabhängig von der in den Kulturen enthaltenen und der durch Kochsalzlösung aus den Bakterien extrahierbaren agglutinogenen resp. agglutinablen Substanzen erfolgen, wenn wirklich die Möglichkeit ausgeschlossen wäre, daß nicht doch im Körper, namentlich junger Bacillen, Reste agglutinabler Substanz zurückbleiben könnten; diese Möglichkeit findet vielfach Analogien in den Tatsachen, daß das Protoplasma in hohem Maße fähig ist, gewisse Stoffe festzuhalten. Nun hat bereits Nicolle nachgewiesen, daß bei der Filtration alter Bouillonkulturen die an der Oberfläche der Filterkerze zurückgebliebenen Bakterienmassen durch mehrfaches Waschen inagglutinabel werden (analog Malvoz); bei jungen Kulturen ist dies nicht der Fall. Es braucht damit kein prinzipieller Unterschied zu bestehen, sondern es kommt eben in älteren Kulturen zu einem reichlicheren Zerfall der Mikroben, zu Vorgängen der Selbstverdauung, so daß die agglutinablen Substanzen durch Waschen viel ausgiebiger zu entfernen sind als in jungen Kulturen.

Carega fand bei B. coli ein Nukleoalbumin als Träger der agglutinogenen Wirkung; die Substanz ist gleichzeitig toxisch; nach Erwärmen auf 100^{0} verliert sie die Giftwirkung, während die agglutinogene Wirkung nach Erhitzen ganz erheblich ansteigt. Die Pickschen Körper sind von dieser Substanz zweifellos verschieden.

Als agglutinogen erwiesen sich ferner die von Brieger & Schütze und Mayer hergestellten Präparate, von denen uns namentlich letzteres interessiert, da es nach der Angabe der Autoren nur agglutinogen, nicht aber präzipitogen wirkte.

Bakterien-(Typhusbacillen-)Salzgemisch (konz. alkal. Ammonsulfat) bleibt durch mehrere Wochen (8—10) bei 37^{0} C stehen; Filtrieren durch ein gehärtetes Filter; der Bakterienniederschlag wird in 20—30 ccm destillierten Wassers mit höchst verdünnter Sodalösung aufgenommen, Schütteln durch

2—4 Stunden, Digerieren im Brutschrank durch 3 Tage, bis vollständige Autolyse eingetreten; hernach Zentrifugieren und Absetzen der Bakterientrümmer; Sterilisieren durch Chloroformdämpfe; die Substanz war ungiftig, in hohem Maße agglutinogen; das Serum war in Verdünnung 1:25000 wirksam; präzipitierte nicht.

Kraus & Joachim fanden bei Wiederholung des Versuches, daß das Serum allerdings durch die Lösung des Brieger-Mayerschen Körpers nicht präzipitiert wurde, wohl aber, daß der Zusatz von Kochsalzextrakten junger Agarkulturen, von Bouillonfiltraten wechselnde Niederschläge in demselben entstehen ließ.

Sind somit durch chemische Methoden verschiedene agglutinable und agglutinogene Körper zu gewinnen, so ist es auch durch physikalische Eingriffe möglich, Verschiedenheiten an den Substanzen nachzuweisen. So fand Joos bei Typhusbacillen eine thermolabile, bei 62° C zerstörbare Substanz, welche in den frischen Typhusbacillen enthalten ist, das α-Agglutinogen, und eine thermostabile, das β-Agglutinogen, Buxton & Torrey je ein bei 70° C festes und lösliches Agglutinogen, Substanzen, die nach denselben Autoren auch die Bildung zweier in derselben Weise verschiedener Agglutinine veranlassen sollen. Dieselben Unterschiede gegenüber höherer Temperatur fanden auch Kraus & Joachim, indem die präzipitable Substanz der Bouillonfiltrate bei Erwärmen auf 62° thermostabil ist, während die Kochsalzextrakte dieser Temperatur nicht widerstehen.

Die Differenzen gegenüber den Angaben Picks von hoher Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperaturen lassen sich damit erklären, daß Kraus & Joachim noch eiweißhaltige Präparate in Händen hatten, während Pick ein bis zum Fehlen der Biuretreaktion eiweißfreies Präparat prüft. Wir sehen, daß entsprechend der Art des Gesamtmoleküls gewisse Eigenschaften wechseln können, wenn auch die reagierende spezifische Gruppe dieselbe ist. Damit dürfte es auch zusammenhängen, daß die Fällbarkeit durch Alkohol, welche die beiden Pickschen Bakterienkoaguline unterscheidet, bei den von Kraus & Joachim beobachteten Modifikationen der präzipitalen Substanz in bezug auf das Verhalten gegenüber höheren Temperaturen keine Unterscheidung zuließ, indem sich sowohl alkoholfällbare als alkohollösliche Bouillonfiltrate resp. Kochsalzauszüge bald thermostabil, bald thermolabil fanden. Denn auch in den Kulturfiltraten und Bakterienextrakten sind die Koaguline an Bestandteile des Bakterienkörpers, an das Bakterienprotein, einen kolloidalen Komplex, gebunden. Es lassen sich daher die an den gereinigten Substanzen Picks gefundenen Eigenschaften weder auf jene, noch weniger auf die agglutinable Substanz der Bakterien selbst übertragen. Dieser Unterschied tritt außer im Verhalten zu Alkohol besonders auch im Verhalten gegen höhere Temperaturen hervor. Da zeigte sich, daß das sogenannte thermolabile Agglutinogen α bei 62° C nicht vollständig zerstört wird, sondern noch die Fähigkeit behält, Agglutinin zu binden, wenn auch ohne Niederschlagsbildung (Kraus & Pirquet), was in Uebereinstimmung steht mit der von Eisenberg & Volk konstatierten Tatsache, daß auf 62—65° C erhitzte Typhusbacillen zwar nicht mehr agglutiniert werden, wohl aber noch Agglutinin aufnehmen. Diese Autoren unterscheiden daher an der agglutinablen Substanz einen thermolabilen Anteil, der bei 65° C zerstört wird und einen thermostabilen, der bei Typhusbacillen ein Erhitzen bis zu 165° C verträgt; man kam dadurch dazu, an der Konstitution

der agglutinablen Substanz die beiden Eigenschaften als an gewissen Gruppen des Moleküls (EHRLICHS Seitenkettentheorie) hängend sich vorzustellen: die bindende, thermostabile, durch welche die Verbindung mit dem Agglutinin erfolgt, und eine thermolabile, fällende oder funktionelle, welche durch Erhitzen auf 65° C und durch andere Eingriffe zerstört wird, wie durch Säure (EISENBERG & VOLK), durch Alkali (PORGES), auch durch gewisse Einflüsse bei der Kultur beeinflußt wird, z. B. Faktoren, von denen wir wissen, daß sie Bakterien inagglutinabel machen; KIRSTEIN zeigte bekanntlich, daß die bei 37° C farblos wachsende Varietät des Bacillus prodigiosus von einem mit dem gewöhnlich rot wachsenden Stamme, aber auch von dem mit der farblosen Varietät hergestellten Serum nicht, oder nur in sehr geringer Verdünnung, agglutiniert wird. Dabei erhält sich aber die Bindungsfähigkeit wie auch die agglutinogene Eigenschaft, was WASSERMANN für Säurebacillen, KIRSTEIN für die weiße Varietät des Bacillus prodigiosus erwiesen; das mit letzterer hergestellte Immunserum agglutiniert die rote Varietät, auch die weiße, wenn sie in Zimmertemperatur wächst (Wegfall der Kapseln).

Es wäre nun zu bemerken, daß die Konstitution der agglutinablen Substanz nicht immer eine derartige ist, wie es sich z. B. an den Choleravibrionen zeigte, die nach EISENBERG & VOLK selbst nach Erhitzen auf 165—170° C durch 1/2 Stunde wenig an ihrer Agglutinabilität einbüßen (s. dagegen weiter unten).

SCHELLER fand auch für Typhusbacillen, daß sie, auf 100° C erhitzt, noch durch eine Serumverdünnung 1:100 agglutiniert wurden, Widersprüche und Gegensätze, die sich mit der oben angenommenen Konstitution der agglutinablen Substanz nicht erklären lassen, sondern die Einwirkung anderer Faktoren wahrscheinlich erscheinen lassen.

Als Träger der agglutinablen Substanz ist das Bakterienprotein zu betrachten, welches den Nukleoproteiden zuzurechnen ist; auch die Schleimhüllen der Kapselbakterien sind nach BRIEGER und den neueren Untersuchungen von PORGES Nukleoproteide, wie aus zahlreichen Untersuchungen nicht nur an Hefezellen (HOPPE-SEYLER, KOSSEL u. a.), sondern auch an verschiedenen Bakterien (VAN DE VELDE, LUSTIG & GALEOTTI, NISHIMURA u. a.) hervorgeht. (Vgl. KRUSE, Allg. Mikrobiologie, 1910, S. 65ff.). Durch Einwirkung von Alkali stellte PORGES aus Typhusbacillen eine schleimige Substanz dar, welche die Fällungsreaktionen der Nukleine und Glykoproteide gab; die Typhusbacillen verlieren dabei ihre Agglutinabilität wie die auf 65° erhitzten. Erhitzen auf 100° nimmt der schleimigen Lösung von Nukleoproteiden ihren Schleimcharakter und tritt Zerfall desselben ein; man erhält Nukleinbasen und reduzierenden Zucker (KOSSEL). Andauerndes Erhitzen der durch Alkalibehandlung schleimig gewordenen Bacillenaufschwemmung auf 100° macht diese dünnflüssig und stellt die Agglutinabilität wieder her. So kam PORGES zur Ueberzeugung, daß die Hemmung der Agglutination durch Erwärmen auf 62—65° C, durch Säuren oder Alkalien auf der Abspaltung des Nukleins aus dem Nukleoproteid beruht. Nach HIRSCHFELD beruht der Verlust der Agglutinabilität bei 70—90° C nicht auf einer Störung der agglutinablen Substanz, sondern auf der durch die Erhitzung eingetretenen Modifikation des Bakterieneiweißes. Darnach beeinflußt die Veränderung des Bakterienproteins die Stabili-

tät der Bakteriensuspension; sie wird stabiler, so daß trotz Agglutininbindung keine Ausflockung eintritt, beim weiteren Erhitzen auf 100° C wird sie wieder labiler, so daß dann Ausflockung eintritt. Porges wies dasselbe Verhalten auch für die Bakterienfiltrate und -extrakte nach, die ja zum Teil eine Lösung, zum Teil eine Suspension kleinster Bakterientrümmer darstellen. Demnach hängt die Fällbarkeit der Bakterienaufschwemmung bei der Agglutination von physikalischen Eigenschaften ab, wird durch Zustandsänderungen des Eiweißkörpers modifiziert und es besteht kein Grund für die agglutinable Substanz, den im Sinne der Seitenkettentheorie komplexen Bau anzunehmen. Diese Zustandsänderungen sind nicht immer typisch gleichmäßig hervorzurufen; so geben Widal & Sicard, van de Velde, Eisenberg & Volk an, daß bei Erhitzen auf 100° C die Agglutinabilität der Typhusbacillen dauernd verloren ginge, was mit dem Befunde Porges von der Wiederkehr derselben bei längerem Erhitzen auf 100° direkt im Widerspruche steht; Porges fand bei Untersuchung von 25 Typhusstämmen einen solchen, der das abweichende Verhalten aufwies, daß erst nach mehrstündigem Erhitzen auf 100° C die Agglutinabilität zurückkehrte und auch dann nur in geringem Umfange; erst Erhitzen auf 144° C machte diesen Stamm auf ein Immunserum 1:20000 in einer Verdünnung 1:2000 noch agglutinabel. Es ist daher nicht ausgeschlossen, daß die genannten Autoren mit einem derartigen Stamm arbeiteten. Auch für Choleravibrionen konnte Porges zeigen, daß es Stämme gibt, bei denen die Agglutinabilität durch Erhitzen auf 80° C verschwindet, während sie bei Erhitzen auf 100° wieder zurückkehrt.

Demnach ist die charakteristische Eigenschaft der agglutinablen Substanz (wie der präzipitablen) die spezifische Bindung und die antigene Natur, während die Ausflockung selbst ein sekundärer Vorgang ist, der durch verschiedene Einflüsse gehemmt werden kann. Wir kommen damit auch im Verhalten der agglutinablen Substanz, ihrer großen Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperaturen, zu einer vollständigen Uebereinstimmung mit der von Pick für seine Koaguline erhobenen hohen Resistenz gegen Hitze, Säuren und Alkalien.

Es sind mit dieser Auffassung auch jene scheinbaren Widersprüche erklärt, daß Bakterien resp. aus ihnen hergestellte Lösungen inagglutinabel resp. nicht koagulabel waren, aber trotzdem eine agglutinogene Wirkung besaßen; wie sich bei darauf gerichteten Untersuchungen zeigte, war die Bindungsfähigkeit erhalten. Deshalb wird die agglutinable Substanz, i. e. der bindende Anteil derselben, für identisch mit der agglutinogenen gehalten; und bei allen Modifikationen, bei welchen zwar die Agglutination resp. bei Lösungen agglutinabler Substanz, die Präzipitation aufgehoben oder verschwunden war, die aber die agglutinogene Eigenschaft besaßen, bestand die Bindungsfähigkeit; das ist sehr ausgesprochen bei den inagglutinablen Bakterienmodifikationen der Fall, wie den durch Säure inagglutinabel gewordenen Typhusbacillen oder bei dem durch Kultur bei 37° C inagglutinablen Bac. prodigiosus, gilt aber auch für die natürlich durch die Menge und die physikalische Eigenschaft des Bakterienproteins, namentlich die nukleoproteinreichen Hüllen inagglutinablen Kapselbakterien (vgl. S. 503). Sie erzeugen wie die mit Hüllen versehene farblose Varietät von Bac. prod. (bei Temperatur

von 37°) im Tierkörper Agglutinin, welches eine agglutinierbar gemachte Bacillenaufschwemmung (Erhitzen mit Säure) oder die Aufschwemmungen des kapsellos und rot wachsenden Bac. prodigiosus in starken Verdünnungen beeinflußt. Nur von Pick existiert eine Angabe, nach welcher einer seiner gereinigten Körper, der sich durch den Mangel der Biuretreaktion, Fehlen der Millonschen Reaktion, durch die Alkohollöslichkeit als ein vom ursprünglichen Bakterienkörper weit entferntes Derivat erwies, weder agglutinogen noch präzipitogen war, wohl aber selbst von empfindlichem Typhusserum noch präzipitiert wurde; analog verhielt sich auch ein Trypsinverdauungsprodukt von Typhusbacillen. Pick kann nicht ausschließen, ob bei längerer Immunisierung (es fehlte an genügender Substanz) nicht doch Agglutination aufgetreten wäre.

Mit dieser Auffassung soll aber nicht auch ausgesprochen sein, daß nicht Modifikationen der Zustandsänderung an der agglutinablen Substanz von Einfluß auf das Reaktionsprodukt, auf das Agglutinin wären. Wie Joos gezeigt hat, besitzt ein mit auf 62° C erwärmten Typhusbacillen hergestelltes Immunserum eine umfänglichere Agglutinationskraft, als das mit normalen Bacillen hergestellte; letzteres besitzt nur in geringem Maße die Fähigkeit, auf 100° erhitzte Bakterien zu agglutinieren, während ersteres ein beträchtliches Ausflockungsvermögen für die auf 100° erhitzten Bacillen besitzt. Kraus & Joachim, Scheller bestätigen dies in besonders darauf gerichteten Untersuchungen. Dieselbe Erfahrung ist auch mit anderen Bakterien gemacht worden; so empfehlen z. B. Kolle & Gotschlich erwärmte Cholerakulturen zur raschen Gewinnung eines hochagglutinierenden Serums. Ich habe diese Erscheinungen mit den Resultaten von Obermayer & Pick über die Zustandsspezifizität der Eiweißkörper und ihrer Präzipitine in Beziehung gebracht. Porges fand nun keine zustandsspezifischen Agglutinine, die sich durch selektive Adsorption hätten trennen lassen, so daß er die Differenzen anderweitig begründet vermutet. Nun erscheint es wohl fraglich, ob mittels der Adsorption die Trennung gelingen muß. Scheller fand, daß bis zu 100° erhitzte Typhusbacillen eine größere Menge des Agglutinins absorbieren als unerhitzte, wenn auch mit jeder Bacillenmodifikation die gesamte Agglutininmenge eines Serums erschöpft werden kann.

Die verschiedenen immunisatorischen Effekte, die man mit verschiedenen Typhusstämmen, auch Cholerastämmen (Kraus, Hammerschmid & Zeki) erhält, würden in ähnlichen, durch andere Einflüsse auf die Struktur der agglutinablen Substanz zustandekommenden Modifikationen ihre Erklärung finden. Hierher möchte ich die höchst interessante Beobachtung von Altmann & Rauth zählen, denen es gelang, durch Passage eines B. coli über Karbolagar einen serologisch vollkommen verschiedenen Stamm zu züchten, der auf das Serum des Ausgangsstammes ebensowenig reagierte, wie sein Serum auf den ursprünglichen Stamm. Hier handelt es sich um ein Coli, dessen agglutinatorisch-individuelles Verhalten bekannt ist.

In der Gruppe der Fleischvergifter, bei denen in einzelnen Epidemien und Erkrankungsfällen wiederholt ein gewissermaßen ähnliches individuelles Verhalten neben einem artspezifischen beobachtet worden ist, so daß die Gruppierung dieser Stämme große Schwierigkeiten bereitete, sieht man ähnlich wie es die menschliche Infektion

bedingt, auch daß die Tierpassage Aenderungen in den agglutinogenen und agglutininbindenden Eigenschaften hervorrufen kann, oder solche im Laufe der Kultur auftreten; diese Veränderungen gehen so weit, daß manche Autoren daraufhin das Entstehen neuer Arten anzunehmen geneigt sind (Sobernheim & Seligmann).

Sobernheim & Seligmann sahen 2 Stämme von Fleischvergiftern, Rumfleth und Haustedt (Gärtner-Gruppe), die von Gärtnerserum nicht agglutiniert wurden, wohl aber von einem Serum Rumfleth, allmählich Agglutininbindung für Gärtnerserum gewinnen, worauf sich auch die agglutinogene Eigenschaft änderte; ein anderer Fleischvergifter, Aertryck (Paratyphus-B-Gruppe zugerechnet), wurde durch die meisten Gärtnersera hoch agglutiniert, nur teilweise aber von Paratyphusseris, und bildete im Kaninchenkörper ein reines Paratyphusserum — also nach Agglutininbindung Gärtnerstamm, agglutinogen ein Paratyphusbacillus.

Boddaert fand einen Paratyphus-B-Stamm, der durch homologes Serum 1:5000, durch Serum Aertryck 1:1000 agglutiniert wurde, durch Kaninchenpassage so verändert, daß diese Agglutinationstiter auf 1:100 absanken, während ein Mäusetyphusserum ihn wie früher 1:5000 agglutinierte; dabei begann der Stamm auf Gärtnerserum zu reagieren. Bofinger & Dieterlen züchteten bei einer Massenerkrankung einen Stamm, der zwischen Coli und Paratyphus B steht, agglutinatorisch eine Sonderart vorstellte, jedoch ein Serum lieferte, das Gärtnerstämme hoch beeinflußte. Eine experimentelle Selbstinfektion mit Mäusetyphus beschreibt Fleischhanderl; aus den enteritischen Stühlen wurde ein Bac. der Paratyphus-Enteritisgruppe gezüchtet, der nur vom Krankenserum, nicht aber von einem Serum, gewonnen mit einem Mäusetyphusstamm des Laboratoriums agglutiniert wurde.

Zeller verglich 5 Paratyphusstämme vom Menschen mit 40 aus Harn von Kälbern gezüchteten Paratyphusstämmen; die ersteren wurden von Menschenparatyphusseris bis 1:8000—25000, dagegen von den Kälberparatyphusseris 1:100—1:900 agglutiniert, 18 Kälberstämme wurden von Menschenparatyphusseris 1:500 und 1:5000, 26 solche Stämme 1:400 und 1:1000 agglutiniert.

Etwas Aehnliches beobachtete Langkau insofern, daß, während menschliche Gärtnerbacillen von Typhusserum stark mitagglutiniert werden, dies bei Kälberruhr-Gärtnerstämmen gar nicht der Fall war.

Sehr instruktiv sind die Resultate Schmitts; er fand bei 2 Fleischvergifterstämmen Flügge-(Kaensche) Paratyphus-Gruppe nach 2—5-tägigem Verweilen in den Geweben von Milchkälbern, daß sie nicht mehr wie Flüggestämme, sondern wie Gärtnerstämme agglutiniert wurden, bei längerer Infektion gewannen auch die Sera der Kälber die Eigenschaften des Gärtnerserums (teils vollständig, teils in der Hauptsache), wobei sich auch die Versuche mit Absättigungen identisch verhielten.

Diese Beobachtungen werden auch als Beispiele für eine Differenz der agglutininbindenden und agglutinogenen Eigenschaften angeführt, wobei die agglutininbindende sich zuerst ändere, während die Umwandlung der agglutinogenen nachfolgt.

Augenscheinlich ist in dieser Gruppe der Fleischvergifter die agglutinable resp. agglutinogene Substanz wenig konstant, auf Einflüsse von seiten des tierischen resp. menschlichen Organismus sehr empfindlich, so daß sich teils agglutinatorische Sonderarten, teils Zwischenarten dadurch ergeben, daß sich dieselben in der Kultur oder bei der Infektion in einem anderen Tierkörper wieder verändern; Boddaert warnt daher nicht mit Unrecht vor der agglutinatorischen Identifizierung eines Stammes, dessen Vorgeschichte man nicht kennt. In der Kultur können solche Eigenschaften latent erhalten bleiben und wieder zum Vorschein kommen, doch ist es nicht berechtigt, daraufhin Mutationen (im Sinne de Vries) anzunehmen, sondern es handelt sich lediglich um Variationen, und zwar fluktuierende, hervorgerufen durch äußere Umstände, wie es mit manchen adoptiven Variationen der Fall ist, wie Schmitt die Erscheinung auffaßt; Stromberg sieht darin degenerative Vorgänge.

Bemerkenswert ist, daß auch hier die agglutininbindende und die agglutinogene Eigenschaft zusammengehen, wenn auch die Abänderung der letzteren nachfolgt und sich später äußert, was infolge des zeitlichen Ablaufs der Agglutininbildung notwendig der Fall sein muß.

Auch die Aenderung des agglutinatorischen Verhaltens infolge Einflusses des Nährbodens ist, soweit sie sich nicht auf nur quantitative Abänderungen, besonders der Agglutinabilität bezieht, hierher zu zählen, bei der es ähnlich wie beim Karbolcoli zur Aenderung der agglutinogenen Eigenschaft gekommen ist. So beobachteten Bordet & Sleeswijk ein verschiedenes agglutinatorisches Verhalten des Bordetschen Keuchhustenbacillus, je nachdem er auf gewöhnlichem Agar oder auf Blutagar gezüchtet worden war.

Der Vorgang dürfte wohl der sein, daß die agglutinogene Substanz aus dem Nährmedium (Tierkörper) Stoffe adsorbiert, wodurch einerseits ihre Agglutinierbarkeit und andererseits auch die agglutinogene Wirkung beeinflußt wird; hierfür wäre z. B. der arsenfeste, dadurch weniger agglutinabel gewordene Hog-Cholera-Stamm Marks ein Beispiel.

Nach Neisser & Friedemann werden Typhusbacillen, die Bleinitrat absorbiert haben, unter Schwarzfärbung der Pole durch SH_2 ausgeflockt; bei Kultur auf Bleisalze-Agar tritt vital bereits Schwarzfärbung ein und die Fällung durch SH_2 bleibt aus (Silberstein, noch nicht publiziert).

In einem ähnlichen Adsorptionsvorgang dürfte die Grundlage für die Paragglutination von Kuhn & Woithe zu suchen sein; denn es liegt nahe, für jene Coli- und Kokkenstämme, die aus dysenterischem Darme gezüchtet, durch Flexnersera beeinflußbar geworden sind, anzunehmen, daß sie lösliche Substanzen der Ruhrbacillen adsorbiert haben, wodurch eine vorübergehende Agglutinabilität für Flexneragglutinine und auch eine stärkere agglutinogene Wirkung auf Flexnerbacillen (vgl. S. 547) zustande kommt.

Daß die agglutinogene Substanz durch derartige Adsorptionen auch in der agglutinogenen Wirkung beeinflußt werden kann, lassen die Versuche von Pick & Schwarz (Adsorption von Metallionen) erkennen (vgl. S. 603); inwieweit durch derartige Adsorptionen die Bindungsfähigkeit für Agglutinin abnimmt, fehlen Untersuchungen.

Es bestätigt sich somit auch für die, sei es durch Zustandsänderungen oder durch Einflüsse von seiten des Tierkörpers oder durch Nährsubstrate resp. Adsorptionen zustande gekommenen Aenderungen der agglutinablen Substanz, wenn sie von einiger Dauer sind, das in der obigen Darstellung zum Ausdruck gekommene und auch allgemein anerkannte Gesetz, daß der bindende und agglutinogene Anteil als identisch zu betrachten ist und gleichzeitig auch der Träger der Spezifizität ist, welche jedem Eiweiß biologisch zukommt.

Nach Wassermann (zit. bei Citron) kann Agglutination ohne Bindung vorkommen; er hatte eine solche Beobachtung gemacht und tatsächlich fand Citron Schweinepeststämme, welche von einem Schweinepestserum (monovalenten und polyvalenten) auch nach Eintragung desselben Stammes in unveränderter Weise agglutiniert wurden; ebenso verhielt sich gleichzeitig ein Mäusetyphusstamm. Die Erscheinung ist nicht erklärt; es ist auffallend, daß derselbe Stamm, welcher im konzentrierten Serum keine Bindung zeigte, in einer Serumverdünnung eine solche deutlich erkennen ließ. Es wäre möglich, daß im konzentrierten Serum die Bindung ausblieb, oder erst nach längerer Zeit eingetreten wäre, während sie in der Verdünnung rascher zustande kam; allerdings

scheint dagegen zu sprechen, daß die Mitagglutination für einen Paratyphusstamm herabgesetzt wurde; vielleicht handelt es sich um ein avideres Partialagglutinin, welches gebunden wurde, während das Hauptagglutinin träger reagierte; eine Pseudoagglutination im konzentrierten Serum (nur durch physikalische Momente) erscheint durch die Wirksamkeit starker Serumverdünnungen ausgeschlossen.

Mit der Tatsache, daß die Ausflockung ein sekundärer Vorgang ist, verlieren die Erscheinungen, welche dafür angeführt wurden, daß die agglutinable Substanz namentlich in den Außenschichten, in den Hüllen angesammelt wäre, an Bedeutung. Die Inagglutinabilität der vielfach gewaschenen Typhusbacillen (Malvoz) oder der hierbei am Filter zurückbleibenden (Dineur) hat nichts mit der Zerstörung der Cilien zu tun, sondern erklärt sich aus der gelegentlichen Verminderung (Auslaugung) von agglutinabler Substanz; Pick fand diese Erscheinung nur bei älteren Kulturen, nicht bei jungen; die Ergebnisse der Versuche von Harrison, Typhusbacillen durch Einwirkung von Pyocyanase infolge Zerstörung der Außenschichten inagglutinabel zu machen, finden ungezwungen in der Veränderung des Proteins durch die stark alkalische, fermentreiche Pyocyanase ihre Erklärung. Auch die Untersuchungen Defalles über die Bedeutung der Bakterienhüllen für die Agglutinabilität und agglutinogene Wirkung gehören hierher; er findet nämlich, daß reich begeißelte Arten (Typhusbac.) oder mit Hüllen versehene (Bac. Herla, ein Kapselbac.) mehr Agglutinin bilden und agglutinabler sind als weniger begeißelte (B. coli) und mit reduzierten Schleimhüllen (B. Friedländer) versehene.

Dieses Verhalten dürfte jedenfalls im Sinne Porges' seine Erklärung finden lassen, wenn es auch etwas auffallend ist, daß der mit enormen Kapseln versehene B. Herla noch durch Verdünnungen seines Immunserums von 1:200 agglutiniert wurde, während das Immunserum des mit „reduzierten" Kapseln versehenen Bac. Friedländer diesen nur 1:1 beeinflußte.

Die Inagglutinabilität der Friedländerschen Bakterien rührt, wie bereits angeführt, von der Ausbildung der Kapseln und der davon abhängigen Stabilität einer Suspension ab; wird das Nukleoproteid derselben durch Kochen in saurer Lösung verändert, so entsteht eine Suspension, die sehr gut agglutinabel ist, wie Porges gezeigt hat. Auffallend ist das Verhalten des auch derselben Gruppe angehörigen Bac. Herla, von dem Defalle mächtige Hüllen, allerdings durch ihre Unregelmäßigkeit eigenartige, beschreibt und der dabei agglutinabel ist; vielleicht werden dieselben bereits durch Wasser soweit hydrolysiert, daß die Ausflockung der Suspension zustande kommt. Gegenüber der Bedeutung der Cilien ist an den Choleravibrio zu erinnern, der eine Geißel besitzt und ausgezeichnet agglutinabel ist.

Smith & Reach glauben dem Bakterienkörper und den Geißeln verschiedene agglutinable Substanz, dementsprechend verschiedene Agglutinine (Somato- und Ciliagglutinine) zusprechen zu können; sie untersuchten den beweglichen Bacillus der Hogcholera und einen unbeweglichen, welchen sie identifizieren; das Serum des ersteren ist viel kräftiger als das des letzteren, verliert durch Adsorption mit letzterem (Körpersubstanz) nichts an seiner Wirksamkeit für den beweglichen. Allem Anscheine nach handelt es sich um Partialagglutinine bei zwei nicht identischen Bacillen.

Auch nach den Untersuchungen de Rossis wäre die agglutinogene Wirkung des Bakterienkörpers und der Geißeln verschieden; er fand

die Agglutinine bei einer als Bac. subtilis Ehrenberg bezeichneten, reich begeißelten Bacillenart a) durch die einfache Aufschwemmung der Bacillen, b) durch die nach Schütteln in ClNa-Lösung und Zentrifugieren erhaltene klare Flüssigkeit, die zahlreiche Geißeln enthält, c) durch das aus Bacillen bestehende Sediment und d) aus der weiterer Spülflüssigkeit dieser Bacillen, von ungleicher Stärke; sie besaßen den Titer 1:1600, 1:750, 1:650 und 1:50; so daß die Seren, von geißelhaltiger Flüssigkeit und durch Bakterienkörper gewonnen, zusammen etwa dieselbe Stärke wie das durch die komplette Bacillen erhaltene besitzen. Rossi glaubt auch für die geißelhaltige Flüssigkeit ein hohes Agglutininbindungsvermögen, das höher war als für die geißellosen Bacillenkörper, nachgewiesen zu haben, so daß er dem Agglutininfixierungsvermögen der Geißeln die leichtere und bessere Agglutinabilität begeißelter Bakterien zuschreibt. In einer zweiten Arbeit identifiziert er die klare, freie Geißeln enthaltende Flüssigkeit mit den freien Rezeptoren von Neisser & Shiga aus unbeweglichen Dysenteriebacillen und will den Beweis liefern, daß der naheliegende Einwurf, die abzentrifugierte Flüssigkeit enthalte außer Geißeln auch gelöste agglutinable Substanz, nicht berechtigt sei; er findet nämlich nur die Flüssigkeit, welche durch Berkefeld V filtriert wurde und zahlreiche Geißeln enthielt, agglutinabel und bindend, nicht aber das zweite, durch eine dichtere Porzellankerze gewonnene geißelfreie Filtrat. Der Beweis ist ungenügend, denn es können auch hier gelöste Bakteriensubstanzen zurückgehalten worden sein.

Ebensowenig beweisend für die Bedeutung der Geißeln ist seine spätere Untersuchung (1906) über das Verhalten derselben bei erhitzten Kulturen desselben Bac. subtilis und des Typhusbacillus, nach welcher die Behinderung der Agglutination bei 65° C mit der bei dieser Temperatur eintretenden Zerstörung der Geißeln zusammenhängen soll; diese ist doch eine der bei dieser Temperatur beginnenden Aenderung des Zelleiweißes folgende Erscheinung.

Sehr bemerkenswert sind nun die Untersuchungen Neufelds, welcher fand, daß Choleravibrionen durch 1-proz. Kalilauge nicht ganz aufgelöst werden, sondern zarte „Hülsen“ von der charakteristischen Form der Vibrionen restieren, welche vom spezifischen Choleraserum nicht nur nicht agglutiniert werden, sondern, was sehr wichtig ist, auch keine agglutinogene Wirkung besaßen; allerdings scheint das Immunserum nicht auf die „Hülsen“ geprüft worden zu sein.

Mit dieser Tatsache dürfte die Diskussion über die Bedeutung der Hüllen für die Agglutination, welche von der Vorstellung ihrer Veränderung bei dem Vorgang entsprechend der Anschauung Grubers ihren Ausgang genommen hat, geschlossen sein. Für die Verteilung der agglutinablen Substanz im ganzen roten Blutkörperchen hat Chyosa neuerdings Versuche gebracht.

Mit der Frage nach der Bedeutung der Hüllen für die Agglutinabilität, für die Verteilung der agglutinablen Substanz usw. hat die Tatsache nichts zu tun, daß eine Beeinflussung derselben durch Erhitzen z. B. unter gewissen Verhältnissen, ähnlich wie die Autolyse unter Chloroform, die Einwirkung von Chlorkalk u. dgl. bei manchen hüllentragenden Bakterien, namentlich Sporen, großen Einfluß auf deren agglutinogene Wirkung besitzt.

Das zeigt z. B. recht instruktiv Defalles Versuch mit Hefen und mit Sporen. Hefezellen, die eine sehr widerstandsfähige Hülle besitzen, liefern nach drei Monaten dauernder Autolyse unter Chloroform ein agglutinierendes Serum in der Verdünnung 1:80, während sonst Hefeserum kaum in Verdünnungen über 1:1 wirksam ist. Dieselbe Förderung der agglutinogenen Wirkung hat Erwärmen der Hefe auf 115° zur Folge. Ebenso verhalten sich Sporen. Werden die zur Immunisierung verwendeten Sporen auf 115° erwärmt, so liefern sie auch im Gegensatze zu unveränderten Sporen ein viel stärker wirksames Serum. Gerade umgekehrt verhält es sich mit auf 115° erwärmten Bacillen als Immunisierungsmaterial; da gewinnt man entweder gar kein oder nur wenig agglutinierendes Serum. Die Versuche lassen sich so erklären, daß bei den mit widerstandsfähigen Hüllen versehenen Sporen und Hefen die Erhitzung die Resorption der agglutinogenen Substanz fördert und daher reichlichere Agglutininbildung zustandekommt, während die starke Erhitzung der gewöhnlichen Bakterien eine Verminderung oder solche Schädigung der agglutinogenen Substanz herbeiführt, daß die Agglutininbildung herabgesetzt wird. Die größere Durchlässigkeit der erhitzten Sporenhüllen findet eine Analogie im färberischen Verhalten.

b) Die agglutinierende Substanz (das Agglutinin).

Widal & Sicard nahmen bereits an, daß die Agglutinine mit den Eiweißkörpern des Blutserums in Beziehung stehen und erkannten gewisse Beziehungen zu den Globulinen (auch Winterberg), indem alle Reagentien, welche die Globuline ausfällen, auch die Agglutinine fällen. Quantitative Differenzen im Eiweißkörper resp. Globulinbestande der agglutinierenden Immunsera sind jedoch nicht nachgewiesen; Joachim[2] fand die Gesamteiweißmenge seines Diphtherieantitoxin-Pferdeserums nicht verändert, trotzdem das Euglobulin während der Immunisierung ums Doppelte zugenommen hatte. Damit mag es auch zusammenhängen, daß Beljaeff die physikalischen Konstanten der agglutinierenden, resp. spezifische Phänomene erzeugenden Sera in denselben Grenzen schwanken sah wie die normalen, so daß der Gehalt an Agglutininen auch unabhängig von der Gefrierpunktserniederung, dem spezifischen Gewichte und dem Brechungsexponenten sowie vom Alkalitätsgrade erscheint.

Das Agglutinin wird durch Magnesiumsulfat und Ammoniumsulfat vollständig, durch Natriumsulfat fast vollständig, durch Natriumacetat, Kaliumnitrat unvollständig gefällt, während Natriumchlorid und Kaliumchlorid nur geringe Fällung erzeugen. Die Agglutinine sind nicht dialysierbar (Widal, Achard & Bensaude, Winterberg, Pick); nach Marbe sollen sie filtrieren (Folge der Absorption durch die Membran, Muir & Browing). Selbst durch Monate fortgesetzte Dialyse ergibt nicht mehr als einen Verlust von ca. 10 Proz. Aus dem Dialysat sind sie durch Salzfällung zu gewinnen, sind durch Kalk, Bleizucker und Kalialaun nicht fällbar, und erscheinen empfindlicher als im Vollblute.

Pick fand im allgemeinen das (Typhus- und Cholera-) Agglutinin im Euglobulin, und zwar bei Ziegen, Kaninchen, Meerschweinchen, beim Pferde aber nur das Choleraagglutinin, während das Typhusagglutinin im Pseudoglobulin enthalten ist. Auch in Gemengen von Typhus- und Choleraimmunpferdeserum oder von Typhusimmunpferdeserum und Choleraimmunziegenserum bewahrten die beiden Agglutinine ihre selbständigen Fällungsgrenzen; jede Substanz verhielt sich so, wie im betreffenden Serum allein. Deshalb liegt aber nicht eine chemische Verschiedenheit im wirksamen Bestandteile vor, denn Pferde-

agglutinin wirkt auf Typhusbacillen wie das Ziegenagglutinin, wohl aber sind die nicht spezifisch wirksamen Anteile verschieden.

Dieser markante chemische Unterschied zwischen dem Typhusagglutinin des Pferdes und demselben Agglutinin bei anderen Tieren und anderen Agglutininen bei demselben Tiere ist eine interessante, wenn auch seltene Erscheinung; sie mag als extreme Differenz für die zweifellos bestehende Tatsache gelten, daß dieselben Agglutinine bei verschiedenen Tieren biologische, chemisch nicht eruierbare Unterschiede zeigen, ja daß beim selben Tier die Agglutinine ein- und derselben spezifisch reagierenden Mikroben Verschiedenheiten zeigen; so sei hier an die Beobachtungen Wassermanns, Lipschütz von der biologischen Verschiedenheit des Typhusagglutinins bei verschiedenen Tieren erinnert. Ein beredtes Beispiel ist ferner die Beobachtung Walkers, der bei Immunisierung mit verschiedenen Typhusstämmen am selben Tiere ebensoviele Agglutinationskurven nachweisen konnte, als Typhusvarietäten zur Immunisierung verwendet worden waren; hier haben allerdings die schwankenden Eigenschaften der agglutinablen Substanz ebenso Bedeutung. Bei der großen Variabilität der Bakterienkörper-Substanzen, wie solche durch die chemischen Analysen bekannt sind (vgl. Gotschlich, d. Handb., I. Bd.), erscheinen noch feinere Variationen ganz natürlich, die bei der agglutinogenen Wirkung im Tierkörper sich sozusagen widerspiegeln werden.

Das durch wiederholte Salzfällung gereinigte, eiweißarme Typhusimmunpseudoglobulin erwies sich nach Pick gegen Erhitzen viel widerstandsfähiger, indem Temperaturen von 80—90° C ohne wesentliche Schädigung ertragen wurden, auch kurzes Kochen, sobald nur die Koagulation der Eiweißkörper (durch Zusatz von Harnstoff) verhindert wurde, während bei eintretender Koagulation der Pseudoglobulinlösung beim Erwärmen auf 75° bereits die feinflockigen Gerinnsel selbst bei sofortiger Lösung kein Agglutinin mehr enthielten; in Uebereinstimmung steht die Eigenschaft der Mischagglutinine, welche Temperaturen von 80° C vertragen (bei Proteus, Rodella, 75° für Typhus, Widal & Sicard). Das Choleraagglutinin des Euglobulins vom Pferde erwies sich viel empfindlicher, indem es Temperaturen von über 65° C nicht ertrug und die Zerstörung des Agglutinins bereits vor Koagulation des Euglobulins eintrat. Auch für andere Agglutinine, allerdings des Vollserums, ist eine größere Empfindlichkeit gegenüber höheren Temperaturen beobachtet worden; so wird das Tuberkuloseagglutinin (Thellung, Romberg), das Agglutinin des Pestserums

Pick versuchte das Agglutinin des Pseudoglobulins durch wiederholte Ammonsulfatfällung und durch Alkohol möglichst zu reinigen; es erwies sich noch immer als Eiweißkörper.

(Kolle) bei 56° C zerstört.

Bei etwa 60 Proz. Alkoholgehalt fällt fast das gesamte Agglutinin aus. Der rasch filtrierte Niederschlag von 40 ccm Pseudoglobulin in 90 ccm Wasser mit wenigen Tropfen Sodalösung gelöst, gab eine Lösung, die (mit Rücksicht auf die Verdünnung) nur mehr $^1/_8$ der ursprünglichen agglutinierenden Kraft enthielt (1:500 gegenüber 1:8000). Die Lösung enthielt nur Spuren koagulierbaren Eiweißes, gab schwache Biuretreaktion, deutliche Millonsche Reaktion, keine Reaktion nach Molisch, keine Schwefelbleiprobe und war ohne Verlust durch Tonzellen zu filtrieren.

Den Verdauungsfermenten Pepsin, Trypsin und Papayotin widersteht das Agglutinin bei 24-stündiger Einwirkung (Winterberg), während durch eine längere Trypsinverdauung (Pick) dieselbe bedeutend abnimmt, durch fünftägige Trypsineinwirkung vollständig vernichtet wird. Durch die Kultur verschiedener (nicht homologer) Bakterien, auch während längerer Zeit (durch 14 Tage, Winterberg), wurde das Agglutinin nicht wesentlich vermindert. Nach Baroni

& Jonesco sind die Agglutinine gegen die ultravioletten Strahlen einer Quarzlampe bis zu einem gewissen Grad resistent.

Asakawa hält das Agglutinin für nichts anderes als modifiziertes Globulin und schlägt daher die Bezeichnung „Agglutinoglobulin" vor; er stützt seine Ansicht darauf, daß beim Filtrieren eines Gemenges von Typhusserumglobulin (durch Dialyse gewonnen) und einer Typhusbacillenaufschwemmung durch Papierfilter im Filtrat nicht nur das Agglutinin, sondern auch das Globulin fast vollständig verschwinde, ferner auf die Vernichtung des Agglutinationsvermögens bei Temperaturen, welche das Globulin koagulieren (75—80° C).

Diese Angaben Asakawas sind, abgesehen davon, daß er auf die verschiedenen Globulinfraktionen keine Rücksicht genommen hat, a priori durch die großen quantitativen Differenzen zwischen Agglutinin und Globulin hinfällig und erscheinen durch die Arbeiten Picks bereits widerlegt.

Alexis Werner & S. Ismailowa fanden im agglutinierenden Serum einen größeren Eisengehalt als im Normalserum und kommen auf Grund eines ganz anders zu deutenden Versuches zur gänzlich unbegründeten Annahme, daß für die Agglutination zwei Substanzen, ein Eisenpräparat und ein lösliches Bakterienprodukt, notwendig wären.

Ein Präparat, welches durch Erhitzen eines Gemenges von glyzerinphosphorsaurem Eisen (oder irgendeines Ferrosalzes) mit glyzerinphosphorsaurem Natron gewonnen war, gab in einer Lösung von 1:10000 spezifische Agglutination für Typhusbacillen, agglutinierte jedoch die durch Formol abgetöteten Typhusbacillen nicht, wohl aber, wenn einige Tropfen filtrierter Typhusbouillon zugesetzt wurden. Abgesehen von der Tatsache, daß mehrfach gewaschene Typhusbacillen, denen keine Spur von Kulturflüssigkeit anhaftet, in typischer Weise agglutiniert werden, besteht auch kein Zweifel, daß es sich bei obigen Eisenpräparaten um eine künstliche Agglutination handelt, aus der großen Gruppe der eiweißfällenden Körper und kolloidalen Substanzen, die, wie ferrocyanwasserstoffsaures Natron und viele andere Körper, wie gewisse Farbstoffe, die Eigenschaft haben, Bakteriensuspensionen zu fällen.

Nach Joos[1] wäre das Typhusagglutinin keine einheitliche Substanz, sondern ließe aus dem Verhalten gegen höhere Temperatur wie die agglutinable Substanz zwei Modifikationen erkennen: ein Agglutinin, welches bei 62° C nicht verändert wird und selbst bei ziemlich lange dauernder Erwärmung ($1^1/_2$ Stunden) auf 65° C keine Veränderung erfährt, und ein zweites, das bei 60—62° C modifiziert wird; das erstere, thermostabil, hat seine Beziehung zur thermostabilen, agglutinogenen Substanz α (bei 60—62° C zerstörbar), das andere, β-Agglutinin zum thermostabilen β-Agglutinogen; je nach dem Vorhandensein der beiden Agglutinine ergibt sich die Reaktionsfähigkeit auf erwärmte Bakterien sowohl als auch ein wechselndes Verhalten, wenn das Serum auf 60—62° C erwärmt wird. Wie zwei Agglutinine verschiedener Tiere, so summieren sich auch Agglutinin α und β (Fonteyne). Die widersprechenden Angaben, daß ein auf 60° C erhitztes Serum in seiner Wirksamkeit gleich geblieben oder modifiziert worden ist, fänden dadurch ebenso ihre Erklärung, wie die verschiedenen Angaben über die Agglutination von auf 60—62° C erwärmten Bakterien durch dieselben Variationen der agglutinablen Substanz. Das β-Agglutinin wird bei Erwärmen auf 63° C unwirksam, aber nicht zerstört, es wird noch von den Typhusbacillen aufgenommen, dieselben werden aber nicht agglutiniert, sondern verlieren die Fähigkeit, von einem frischen Serum agglutiniert zu werden. Die-

selbe Modifikation haben EISENBERG & VOLK bei Seris beobachtet, welche längere Zeit gestanden hatten (über Jahr und Tag), ferner bei Erwärmen auf 60° C (eine Stunde) bis 75° C, bei Einwirkung von Säuren und Alkalien und teilweise auch bei Formol- oder Harnstoffzusatz.

Bei geringem Säureüberschuß kann durch Neutralisation mit Natronlauge die Agglutinationskraft teilweise wiederhergestellt werden. Wie EISENBERG & VOLK, WASSERMANN gezeigt haben, zerstören Säure und Alkali das Agglutinationsvermögen nicht vollständig, wohl aber nimmt der Agglutinationswert um die Hälfte ab; außerdem verlieren solche Sera die Fähigkeit, in starker Konzentration zu reagieren und die Agglutination in höheren Verdünnungen erscheint unvollständig.

So ergab ein Typhusimmunpferdeserum vom Titer 1:45000 bei Zusatz von $^1/_4$-Normalsalzsäure folgendes Verhalten nach 24 Stunden:

Verdünnung $^1/_{10}$	k. A.
$^1/_{100}$	g. Sp. v. A.
$^1/_{1000}$	v. A.
$^1/_{5000}$	f. v. A.
$^1/_{10000}$—$^1/_{20000}$	unv. A.

darüber hinaus abnehmende Spuren von Agglutination.

Es tritt in den konzentrierteren Verdünnungen eine Art Hemmung der Agglutination ein, unter gleichzeitiger Abnahme der Höhe der Agglutination. Bei Zusatz verschieden dichter Bakterienaufschwemmungen zur selben Verdünnung eines Säureserums, z. B. 1:100, ergibt sich eine ähnliche Erscheinung, indem dünne Aufschwemmungen gar nicht agglutiniert werden, dichtere nur unvollkommen; bei noch stärkerer Verdünnung (1:400) findet bei einer Aufschwemmung von einer gewissen Dichte (in den Versuchen von E. & V. „einfachen“) eine Agglutination statt, die bei dünneren Aufschwemmungen sukzessive schwindet. Säureserum 1:400 nach 24 Stunden:

1-f.	Aufschw.	v. A.	$^1/_6$-f.	Aufschw.	k. A.
$^1/_2$-f.	„	f. v. A.	$^1/_8$-f.	„	k. A.
$^1/_4$-f.	„	Sp. A.			

Die Erscheinung geht parallel mit der bereits angeführten Tatsache, daß Typhusbacillen, die mit einem solchen Serum in Berührung gestanden, dabei nicht agglutiniert wurden, auch die Fähigkeit verloren haben, durch unverändertes Serum agglutiniert zu werden.

Letztere Erscheinung führte zur Annahme einer solchen Modifikation des Agglutinins, daß dasselbe sich wohl noch mit dem Bakterium verbinde, aber dabei keine Agglutination hervorrufe: es ist, wenn man sich die Konstitution des Agglutinins mit einer die spezifische Bindung besorgenden, haptophoren, gleichzeitig resistenteren und einer funktionellen, agglutinophoren (EISENBERG & VOLK, A. WASSERMANN), thermolabileren Gruppe vorstellt, erstere intakt geblieben, letztere zerstört. In Analogie mit ähnlichen Modifikationen, z. B. bei Toxinen wird ein solches Agglutinin als Agglutinoid bezeichnet. KOLLE meinte, daß es sich um eine Dissoziation der Substanzen handle. Es liegt wohl die Annahme am nächsten, daß es sich um eine Aenderung der kolloidalen Eigenschaften handle, von welchen nach eingetretener Bindung die Fällung (Agglutination) abhängt.

Mit der Vorstellung vom komplexen Bau des Agglutinins wird die genannte Erscheinung der Hemmung mit der Annahme einer intakten haptophoren Gruppe erklärt; das Agglutinoid verbindet sich rascher mit der agglutinablen Substanz (infolge gesteigerter Affinität — Proagglutinoid), die nun nicht mehr vom intakten Agglutinin besetzt werden kann; geringe Mengen des Agglutinoids werden bei stärkerer Serumverdünnung nicht nennenswert zur Geltung kommen, daher Hemmung in konzentrierten Lösungen, komplette Agglutination in verdünntem Serum; bei sehr dünner Bakterienaufschwemmung wird die Wirkung des Agglutinoids eine umfänglichere; die Hemmungszone nimmt auch zu, je größer gleichzeitig die Abnahme des Agglutinationswertes ist; so gab ein auf 70° erwärmtes Typhusagglutinin vom ursprünglichen Titer 1:45000 bei 1:100 gar keine, bei 1:500 unvollständige, bei 1:1000 und 1:5000 Spuren und bei 1:10000 gar keine Agglutination.

Auch ohne Steigerung der Affinität, wenn das Agglutinoid dieselbe Avidität besitzt (Synagglutinoid), wird es kaum zu einer vollkommenen Agglutination kommen, da ein Teil der Bakterien sich mit dem Agglutinoid verbinden wird, so daß immer inagglutinierbare neben agglutinablen Bakterien sich finden. Nach A. Wassermann wird ein solches Serum (ein Jahr altes mit Karbol konserviertes Choleraserum) bei mehreren Untersuchungen ein wechselndes und unregelmäßiges Bild geben, je nachdem gerade in einer Verdünnung mehr oder weniger vom Agglutinoid gebunden worden war. Auch bei Diphtherie- resp. Dysenteriebacillen agglutinierenden Seris wurden von Schwoner, Lipstein, Shiga[2] Agglutinoide beobachtet; für die Praxis der Serodiagnostik ist ein solches Serum natürlich unbrauchbar.

In derselben Auffassung bewegt sich die Vorstellung Asakawas vom Entstehen und der Bildung des Agglutinins nach Ehrlichs Seitenkettentheorie: die Rezeptoren A gewisser Gewebszellen besitzen eine Affinität zur agglutinablen Substanz B der Bakterien; die Bindung A-B veranlaßt Neubildung und Ueberproduktion derselben Zellrezeptoren A, die ins Blut gelangt, sich mit einem Anteil G des Serumglobulins verbinden, so daß A-G das Agglutinin vorstellen würde; A als abgestoßener Zellrezeptor bindet die Bakterien B-A-G, wobei die Agglutination zustande kommt; den Zellrezeptor A mit den beiden Valenzen für Globulinteile und Bakterien bezeichnet Asakawa als „Agglutinogene", eine Bezeichnung, die unzweckmäßig ist, da sie besser für die Antigene im Bakterienkörper, für die agglutinogene Substanz desselben verwendet wird.

Bail[1,3] kam zu einer anderen Vorstellung; er faßt das Agglutinin als Rezeptor III. Ordnung auf; er glaubt, daß beim Erhitzen auf 75° C eine vollständige Trennung des spezifisch wirksamen Anteils, analog dem Ambozeptor, des „Agglutinophor", von einem nicht spezifischen „Hemiagglutinin" zustande komme. Seine Anschauung fundiert auf dem Versuche, daß $^1/_{10}$ verdünntes Immunserum auf 75° C die Bakterienaufschwemmung (Typhusbacillus) durch 2—3 Stunden bei 38—42° C gehalten, nicht agglutiniert; durch Zusatz von frischem Meerschweinchenserum oder besser noch von Peritonealexsudat vom Meerschweinchen kommt es wieder zur Agglutination. Eisenberg gelang der Versuch mit großen Mengen Peritonealexsudat, welches selbst bei Erhitzen auf 75—80° C diese Fähigkeit bewahrt, zum Unterschied des bei 56° zerstörten Komplements des Normal-

serums; Shibayama & Owada gelang es zwar mit normalem Kaninchenserum, und nur mit solchem, die Agglutinoidzone durch Alter oder Erhitzen modifizierten Typhuspferdeserums zum Verschwinden zu bringen, nicht aber eine vollständig verschwundene Agglutination wieder hervorzurufen, auch nicht, den früheren Agglutinationswert wieder herzustellen; sie negieren daher eine komplementartige Wirkung des Normalkaninchenserums und nehmen eine Ablenkung des Agglutinoids an. Es handelt sich somit um Spezialfälle, in welchen die Aufhebung der Agglutinationshemmung durch Zusatz von frischem Serum oder Exsudat gelingt, die zunächst nicht mit der Reaktivierung nach Art der Ambozeptorenwirkung zu analogisieren ist. Immerhin hat sich der dort gebrauchte Ausdruck „Inaktivierung" für diese Modifikation des Agglutinins teilweise erhalten, der sich aber, da eine nur halbwegs typische oder gesetzmäßige „Aktivierung" nicht möglich ist, und überhaupt ein ausreichender Beweis für einen derartig komplexen Bau des Agglutinins nicht erbracht ist, durchaus nicht empfiehlt. Zu bemerken wäre noch, daß Temperatur und Geschwindigkeit der „Inaktivierung" sowohl nach den Beobachtungen Shibayamas für Typhuspferdesera als nach den eigens darüber angestellten Untersuchungen Strengs an Typhus- und Coliimmunagglutininen, sowie an Colinormalagglutininen bei verschiedenen Tieren sehr schwanken; doch wird Coli-Immun- und -Normalagglutinin vom selben Tiere immer in derselben Geschwindigkeit inaktiviert (Streng), da weder Salzgehalt noch Verschiedenheit des Eiweißgehaltes die großen Unterschiede erklären können, so kommt Streng zur Annahme, daß das Agglutinin nicht einheitlich sei, sondern aus einer Reihe verschiedener Partialagglutinine mit verschiedener Thermostabilität bestehe.

Traube, der hervorragendste Verfechter der physikalischen Theorie der Immunität, nach welcher nicht chemische Affinitäten der Antigene, sondern ihre physikalischen Qualitäten (Oberflächenspannung etc.) der Antikörperbildung zugrunde liegen, führt die Agglutinine (Präzipitine) speziell als Beispiele für seine Resonanztheorie an.

Hemmung der Agglutination, sowohl eine Zone bei stärkerer Serumkonzentration als auch als Abnahme im Agglutinationswerte, kommt nicht allein beim Altern und Erhitzen des Serums, unter der Einwirkung von Fäulnis zustande, sondern auch bei vorsichtigem Zusetzen verschiedener Salze, Säuren und Alkalien (vgl. S. 579), Formol etc. Besonders bemerkenswert und praktisch wichtig ist das Vorkommen einer Hemmungszone bei frischen Seris in stärkeren Konzentrationen, aber selbst noch bei Verdünnungen von 1:80 und 1:100. Bereits Grünbaum[5] hat eine solche Beobachtung gemacht und die besonders darauf gerichteten Untersuchungen von Volk & de Waele ergaben das tatsächliche Vorkommen von Hemmungen in starken Konzentrationen bei frischen Immunseris; Scheller fand sie auch bei frischen Normalseris, de Blasi, Lipstein, Lipschütz, Falta & Noeggerath, Gräf bestätigen diese Tatsache an frischen Immun- und Krankenseris. Hier ist sie von besonderer praktischer Bedeutung, worauf schon Volk & de Waele und meine erste Bearbeitung in diesem Handbuch aufmerksam gemacht haben; Falta & Noeggerath haben dieselbe besonders verfolgt. Diese Hemmung, die bei Typhusbacillen auch nur für gewisse Stämme (Falta & Noeggerath) bestehen kann, ist gewiß die Ursache mancher negativer Gruber-Widalscher Re-

aktionen, wenn man nicht auch in höheren Verdünnungen, 1:100 und darüber, geprüft hat. Beruht diese Hemmung frischer Sera auf derselben Modifikation des Agglutinins wie bei alten Seris oder ist eine andere Ursache wahrscheinlich? Gegen eine Identität mit dem Agglutinoid der älteren Sera spricht, daß der Hemmungskörper frischer Sera beim Stehen (in ein paar Tagen) verschwindet; gegen die Annahme einer dem Agglutinoid analog wirkenden Vorstufe des Agglutinins sprechen die Untersuchungen von Falta & Noeggerath an Krankenseris, bei denen Hemmungskörper auch später auftreten, oder anfänglich vorhandene zunehmen. Da die Autoren mit Joos ein thermolabiles und ein thermostabiles Agglutinin annehmen, von dem die Eisenberg-Volkschen Agglutinine abstammen, so denken sie an Proagglutinoide aus einem thermostabilen Agglutinin, die sich bereits im Organismus bilden.

Da diese Hemmung nach Erhitzen des Serums auf 56° C verschwindet, so konnte man auch an eine durch gleichzeitige Bakteriolyse zustandekommende Einwirkung denken, ähnlich etwa wie im lebenden Organismus (Pfeifferscher Versuch) bei ausgesprochener Lyse die Agglutination ganz zurücktritt, nur die Aufhebung der Beweglichkeit (die Paralysine Pfeiffers) ausgesprochen ist. Falta & Noeggerath glauben diese Annahme ablehnen zu können, weil, wenn auch eine Verminderung der Bakterien nachzuweisen ist, eine reichliche Zahl freier vorhanden bleibt. O. Streng hält doch die Bindung des Alexins für die Ursache, Abschwächung desselben durch Aqua dest., Absorption durch Blutkörperchen, beheben die Hemmung. Scheller und Eisenberg haben Hemmung auch in frischen agglutinierenden Normalseris für Typhusbac., Heubac. gefunden.

Es wurde bereits erwähnt, daß auch chemisch-physikalische Zustandsänderungen als Ursache für das Ausbleiben der Agglutination, das sogenannte Hemmungsphänomen, in Erwägung gezogen worden sind; Erhitzen auf gewisse höhere Temperaturen führt ja zur Denaturierung der Eiweißkörper und, da das Agglutinin mit denselben in chemisch-physikalischer Beziehung steht, so könnte es dadurch beeinflußt werden. Porges hat die damit zusammenhängende Vorstellung verfolgt, daß, wie für das Zustandekommen der Ausflockung die Stabilität der Bakteriensuspension von Bedeutung ist, dasselbe auch bezüglich der Stabilität der Agglutininlösung der Fall wäre. Bei Modifikation der Versuche von Neisser & Friedemann, von Bechhold, welche zeigten, daß eiweißartige Kolloide in Kombinationen mit an sich nicht fällenden Salzmengen eine Mastixsuspension ausfällen, fand Porges, daß auf 75° erhitztes Serum in starker Konzentration ($^1/_{10}$—$^1/_{40}$) auch bei dieser Hemmung zeigt, während nicht erhitztes Serum die Mastixlösung ausflockt, ferner, daß eine solche mit erhitztem Serum versetzte, nicht ausgeflockte Mastixlösung nun auch von frischem Serum nicht ausgeflockt wird; für die Bedeutung der Zustandsänderung der Eiweißkörper spricht anderseits die Beobachtung Picks, daß mit der durch Zusatz von Harnstofflösung zum agglutinierenden Immunserum verhinderten Eiweißkoagulation auch die Hemmungserscheinung ausbleibt, ferner ein eigener Versuch Porges', bei welchem nach Zusatz von Formaldehyd zu Typhusimmunserum keine Hemmungszone in starker Konzentration auftritt, da eben Formaldehyd die Hitzekoagulation der Eiweißkörper verhindert. Diese Auffassung

des Hemmungsphänomens als eine der wiederholt beobachteten Inaktivierungserscheinungen von Immunkörpern infolge der Denaturierung der Eiweißkörper durch Hitze (vgl. LANDSTEINER „Beziehung der Lipoide und Kolloide zur Immunitätslehre“ in diesem Handbuche) gestattet eine einheitliche Erklärung sowohl für die Hemmung durch Erhitzung oder Altern der Sera, als ihr Verschwinden nach Erwärmung frischer Sera auf 56° C, nicht minder das verschiedene Verhalten gegenüber einzelnen Stämmen, indem die Kombination verschiedener Stabilität der einzelnen Bakterienaufschwemmungen mit der der Agglutininlösung solche Unterschiede zur Folge haben kann. Auch andere Beobachtungen erklären sich so zwanglos, wie das EISENBERG & VOLK bei Gemengen von hemmenden und unveränderten Immunseris nie eine komplette Hemmung erzielen konnten, und daß hemmendes Serum noch nach dem Zusatz des aktiven, am Beginn der Ausflockung, diese verhindert (Aenderung der kolloidalen Beschaffenheit der Flüssigkeit behindert die Ausflockung der mit aktivem Agglutinin bereits besetzten Bakterien), und überhaupt die obigen Angaben über „Reaktivierung“ durch Zusatz von frischem Serum (z. B. SHIBAYAMA).

Wenn auch nach dieser Auffassung eine Modifikation des Agglutinins nicht ausgeschlossen ist, so scheint es sich bei dem Ausbleiben der sichtbaren Reaktion vielfach um eine Kaschierung, ein Verdecktsein derselben zu handeln; dann erscheint auch die Bezeichnung „Agglutinoid“ nicht gerechtfertigt (LANDSTEINER, PORGES, MILLER u. a.). Diese Autoren analogisieren die Agglutinationshemmung durch das sog. „Agglutinoid“ der bei der Ausflockung von Kolloiden und Salzen in ähnlicher Weise beobachteten Erscheinung, daß bei Ueberschuß eines der reagierenden Körper eine Lösung des Präzipitates erfolgt. Nur in dieser Beziehung wäre der Ausdruck „inaktiviertes Agglutinin“ richtig, wenn nicht, wie angeführt, diese Bezeichnung beim cytolytischen System üblich wäre, bei dem auch eine Reaktivierung möglich ist. Für die Theorie, daß überhaupt die Inaktivierungen der Immunkörperreaktionen durch Erhitzung Folgen der Eiweißdenaturierung sind, würde eben in dieser Richtung kein prinzipieller Widerspruch mit der Bezeichnung der „Inaktivierung“ verbunden sein. Immerhin ist die Unmöglichkeit einer Reaktivierung ein wesentlicher Unterschied und wurde oben aus diesem Grunde diese Bezeichnung abgelehnt. Man könnte daher den Ausdruck „Agglutinoid“ nur noch beibehalten, bis vielleicht ein passenderer Eingang gefunden hat, jedenfalls müßte er aber von der Vorstellung einer wiederherstellbaren Modifikation des Agglutinins befreit werden.

Aber nicht nur Hemmung, sondern, wenn auch selten, eine beträchtliche Steigerung des Agglutinationswertes wird beobachtet, die nicht mit einer besonderen Labilität der Bakterienaufschwemmung zu erklären ist, sondern im Serum seine Ursache haben muß; so beobachteten SCHELLER, auch GLÄSNER, EISENBERG eine Zunahme des Titers bei frischem Immunserum nach mehrtägigem Stehen, POSSELT & v. SAGASSER sahen beträchtliche Zunahme anderer (Neben-) Agglutinine nach Ausfällen eines (Haupt-) Agglutinins, LANDSTEINER & PRASEK nach Fällung mit Präzipitin; hierher gehört auch die ältere Beobachtung PICKS, daß ein Typhusimmun-Pferdeserum von 1:10000—1:20000 nach $^3/_4$-stündigem Erhitzen auf 60° C in der doppelten Verdünnung, 1:40000 prompt agglutinierte, oder

daß ein Pseudoglobulinpräparat, welches 1:4000 komplett, 1:10000 unvollkommen agglutinierte, nach Mischung mit dem Koagulin A noch 1:40000 Agglutination gab. Friedemanns ähnliche Beobachtungen scheinen sich auf salzfreies Serum und die Wirkung der Globuline zu beziehen. Es würde zu weit führen, sich in mehr weniger noch hypothetische Analysen dieser bisher unerklärten Erscheinungen einzulassen, jedenfalls erlaubt aber die Annahme von einer gewissen Bedeutung des kolloidalen Zustandes der Flüssigkeiten eher eine Vorstellung für das Zustandekommen dieser Steigerung als die von „agglutinationswidrigen" Substanzen, für deren Existenz Beweise fehlen.

Es wurde auf die Erscheinung des Hemmungsphänomens etwas ausführlicher eingegangen, einerseits, weil dasselbe in praktischer Hinsicht sehr wichtig ist, anderseits theoretisch für den Mechanismus der Agglutination von großer Bedeutung ist, da sich dabei zeigt, daß der Vorgang der Bindung der reagierenden Substanzen nicht nur als das Primäre, sondern auch als das Wesentliche der Reaktion zu betrachten ist, dessen Nachweis (entweder Absorption des Agglutinins oder eingetretene Inagglutinabilität der betreffenden Bakterien) einer typischen Agglutination gleichwertig zu betrachten ist. Verschieden von der besprochenen Hemmung ist die, welche die Agglutination durch Bakterienextrakte (Shiga & Neisser) infolge Bindung des Agglutinins durch die agglutinable Substanz der Extrakte erfährt; Weil negiert diese Auffassung, Bürgers & Hösch beobachteten dieselbe neuerdings; Weil möchte dieselbe überhaupt nicht für spezifisch halten; die Frage hängt zusammen mit den Beziehungen zwischen Agglutininen und Präzipitinen, bei deren gemeinsamer Ausfällung die quantitativen Verhältnisse eine große Rolle spielen (vgl. S. 601).

Mit Bakterienagglutininen ist es nicht gelungen, Antiagglutinine zu erzeugen (Kraus[5], Wassermann, Fonteyne), was sich aus ihrer ausschließlichen Beziehung zu den Bakterien im Gegensatz zu den Hämagglutininen erklären läßt.

Die Agglutinine hängen, wie Kraus & Pribram in Anlehnung an die Versuche von Dehne & Hamburger über die Antitoxine nachweisen, an der präzipitablen Substanz, aber nicht konstant, so daß es diesbezüglich Unterschiede zwischen den einzelnen Seris gibt; nach Andrejew, v. Eisler & Tsuru sind für diesen Nachweis die quantitativen Verhältnisse von größter Bedeutung. Da durch Adsorption mit Kohle, Kaolin und Kieselgur die Verluste an Agglutinin verschieden sind, von denen durch Präzipitation, so wird man dazu gedrängt, die letzteren nicht auf reine Adsorption zu beziehen, sondern einen gewissen Zusammenhang zwischen den Agglutininen und dem Präzipitinogen anzunehmen. Landsteiner & Prašek finden in der Eigenschaft der Agglutinine als präzipitable Substanzen einen Beweis dafür, daß sie mit größter Wahrscheinlichkeit als Eiweißkörper anzusehen sind; sie erkannten ferner in der Präzipitinreaktion die Möglichkeit einer quantitativen Bestimmung der Agglutinine und kommen auf Grund ihrer Untersuchungen zu den wichtigen Schlüssen, daß 1) die Normalagglutinine unmöglich auf ebensoviele präformierte, spezifisch wirksame Substanzen zurückgeführt werden können, und daß 2) die Möglichkeit zu erwägen ist, ob die Wirkung der Immunagglutinine nicht nur auf quantitativen, sondern auch qualita-

tiven Veränderungen der Immunstoffe, auf der Entstehung neuer stärker wirksamer Substanzen beruhen könne (vgl. S. 521).

Sie fanden z. B. die durch Behandeln mit der Typhusbacillen-Aufschwemmung bewirkte Abnahme des Eiweißgehaltes beim Normalserum 2,7 mg, beim Immunserum 3,4 mg, also 1:7 mg für das absorbierte Immunagglutinin oder $^{1}/_{50}$ des gesamten Eiweißes.

Die Beziehung des Agglutinins zur präzipitablen Substanz erweist sich in eklatanter Weise in der Beobachtung von Moreschi, nach welcher die Agglutination durch den Zusatz eines auf das Eiweiß des agglutininhaltenden Serums gerichteten Präzipitins gefördert wird. Typhusbacillen werden durch ein Typhusimmunziegenserum viel intensiver und massiger agglutiniert, wenn man ein Antiziegenserum vom Kaninchen zusetzt. Ein Typhusimmunziegenserum vom Titer 0,02 agglutiniert bei Zusatz von 0,05 Kaninchen-Antiziegenserum noch in einer Verdünnung von 0,0003 komplett. Das Typhusimmunserum der Ziege ist hier sowohl Antikörper als auch Antigen, welches mit dem Antiziegenserum reagiert.

Anhang.

Ueber die Avidität der Agglutinine.

Im Anschlusse an die bei Antitoxinen (Kraus, Vibrionen-Dysenterie-Antitoxin) gemachten Beobachtungen wurden auch die Aviditätsverhältnisse der Agglutinine genauer studiert. Unter Avidität wird die Intensität der Reaktion zwischen Antikörper und Antigen verstanden. Diese kann in verschiedener Weise zum Ausdruck kommen; einmal in der Geschwindigkeit, mit der die Verbindung des Antikörpers mit seinem Antigen stattfindet (Reaktionsgeschwindigkeit), andererseits in der Vollständigkeit der Vereinigung beider Körper und schließlich in der Festigkeit der entstandenen Verbindung, welche sich durch den Widerstand gegen die Trennung beider Körper kund gibt.

Der zeitlichen Differenzen, innerhalb welcher die Agglutination zustande kommt, wurde gelegentlich der „Methode“ Erwähnung getan. Scheller hat auf diese Differenzen ganz besonders aufmerksam gemacht. So beobachtete er, daß von 2 gleichzeitig untersuchten Seris das eine A nach $^{1}/_{4}$ Stunde Zimmertemperatur nur 1:10, das andere B zu dieser Zeit bereits 1:320 positiv reagierte; nach 2 Stunden Brutkasten zeigte A ebenso 1:320 wie B, bei dem der Titer nicht gestiegen war, auch in weiteren 20 Stunden Zimmertemperatur derselbe blieb, während A noch bis zur Verdünnung 1:640 positiv wurde.

Wenn in diesem Falle auch beide Phasen, die Agglutininbindung und die Ausflockung, zur Beobachtung dienen, so dürfte auch die Annahme richtig sein, für das Serum B, bei dem die Reaktion so rasch eintrat, eine größere Avidität des Agglutinins anzunehmen als beim Serum A, das einen höheren Titer besaß, aber langsamer reagierte.

Für die exakte Prüfung der Avidität der Agglutinine kamen vorwiegend die beiden Merkmale, welche die Bindung der Agglutinine in Betracht ziehen, zur Verwendung. In dieser Beziehung wurden

Aviditätsunterschiede bei Agglutininen von Landsteiner & Reich erhoben, indem sie durch die Abspaltungsversuche an mit normalen und immunisatorisch erzeugten Agglutininen beladenen Blutkörperchen zeigen konnten, daß die letzteren in viel geringeren Mengen von den Blutkörperchen abgegeben werden als die ersteren, mithin zu diesen eine größere Affinität besitzen. In einer anderen Versuchsreihe fanden dieselben Autoren, daß die Agglutinine des Normalserums mit ihrer weniger ausgebildeten Spezifizität leichter von Kasein aufgenommen werden als die des Immunserums.

Ein besonderes Studium erfuhren diese Verhältnisse durch Arbeiten von P. Th. Müller und seinen Mitarbeitern, Busson und Rintelen, am Typhusagglutinin. Durch diese Untersuchungen wurde der Nachweis erbracht, daß in agglutinierenden Immunseris Antikörper verschiedener Avidität nebeneinander vorhanden sind. Diese Unterschiede werden teils dadurch bedingt, daß in den einzelnen Immunisierungsperioden Antikörper verschiedener Avidität gebildet werden, teils dadurch, daß die einmal gebildeten Antikörper mit der Zeit eine Abschwächung ihrer Avidität erleiden. Gleichzeitig sprach Müller die Ansicht aus, daß die Avidität der Antikörper mit der Intensität des Produktionsvorganges in Zusammenhang zu bringen sei, d. h. eine Abhängigkeit der Avidität von dem Titer des Serums besteht. Wie v. Eisler nachwies, besteht ein derartiger allgemein gültiger Zusammenhang nicht, sondern es kommt nach seinen Versuchen vor allem die Individualität des agglutininproduzierenden Tieres für die Größe der Avidität in Betracht, wenngleich bei demselben Tiere im allgemeinen im Laufe der Immunisierung Titer und Avidität einen parallelen Anstieg aufweisen, wie auch aus Versuchen von Busson hervorgeht. Auch Scheller sprach sich bei seinen Beobachtungen über Rückgang resp. Ausbreitung der Agglutination bei Temperaturen von 37° C dahin aus, daß die „Bindungsintensität" mit der Agglutinationshöhe in keiner Proportion steht.

Müller selbst stellt in einer späteren Arbeit fest, daß die Abhängigkeit der Avidität von der Intensität der Agglutininproduktion nur für ein bestimmtes Serum Geltung habe, daß also verschiedene Tiere bei gleich hohem Serumtiter verschiedene Aviditätsverhältnisse darbieten können. Wenn man immunisierte Tiere sich selbst überläßt, so findet, wie Müller nachwies, ein Rückgang der Avidität und zugleich auch des Agglutinationstiters statt. Ueber gleiche Versuche hat auch v. Eisler berichtet. Nach Versuchen von v. Eisler tritt außer in vivo auch in vitro bei längerer Aufbewahrung von agglutinierenden Immunseren eine Aviditätsabnahme ein, gleichzeitig auch ein Sinken des Titers, ohne daß aber beide Größen in gleichem Maße abzunehmen brauchen. Daß auch hohe Avidität mit niederem Titer vorkommen kann, zeigen Beobachtungen von Rintelen an typhuskranken Menschen: Schwere Fälle wiesen eine hohe Avidität und niederen Agglutinationstiter auf, wogegen leichte Fälle eine niedrige Avidität bei höherem Titer des Agglutinins besaßen.

Auch die Art der Immunisierung scheint nach den Versuchen von Rintelen für den Grad der Avidität von Einfluß zu sein. Bei subkutaner Injektion von Kaninchen mit Typhusbakterien erhielt er Sera mit hoher Avidität und niederem Titer; das umgekehrte Verhalten wiesen die Sera nach intraperitonealer Einver-

leibung des Antigens auf. MÜLLER sucht auf hypothetische Weise diese Befunde folgendermaßen zu erklären: Bei schweren Typhusfällen ist ein Teil der Antikörper produzierenden Organe nicht mehr leistungsfähig, so daß die noch funktionierenden Zellen in um so größerer Intensität Agglutinine bilden; daher geringere Menge von Agglutinin, aber hohe Avidität. Aehnlich wären die Verhältnisse bei subkutaner Einführung des Antigens, indem dieses nur mit einer relativ geringen Anzahl von Zellen in Berührung kommt, während bei intraperitonealer Injektion das Antigen eine allgemeine Verbreitung im Körper findet.

Zur Angabe DENNEMARKS, daß ein gewisser Unterschied im Zeitpunkt des Eintritts der Agglutination bei klinisch Erkrankten und bei Gesunden (Bacillenträgern) existiert, indem bei ersteren die Reaktion nach ca. 2 Stunden meist beendet ist, während sie bei Gesunden und selbst bei steigendem Titer (Wiederholung der Probe nach einigen Tagen) nur langsam zustande kam, verweist P. TH. MÜLLER[5] auf die von RINTELEN erhobenen Verhältnisse. Er meint, daß, wenn die Schwere der Erkrankung bestimmend auf den Grad der Avidität einwirkt, so werden bei den Gesunden, tatsächlich aber Infizierten, niedrige Aviditätswerte zu erwarten sein.

Außerdem ergeben sich Aviditätsunterschiede je nach der Immunisierungsphase, in der die Blutentnahme erfolgt. Ueber die Kompliziertheit der einschlägigen Verhältnisse geben Versuche von BUSSON Aufschluß. Er beobachtete, daß sich die mit Typhusbacillen immunisierten Tiere in zwei Gruppen teilen lassen, deren eine zu Anfang der Erstimmunisierung mit sehr niedriger Avidität reagiert, die andere mit relativ hoher. Nach dem Abklingen der Erstimmunisierung war das Verhalten der Avidität gerade das umgekehrte, indem diejenigen Tiere, die zuerst Sera von niedriger Avidität aufwiesen, nunmehr solche von hoher Avidität zeigten, und umgekehrt. Dasselbe Verhalten besteht in der folgenden, annähernd stationären Phase. Infolge Revaccination findet neuerdings ein Wechsel der Aviditätswerte statt, sowohl bei jenen Tieren, die unmittelbar vor derselben hohe Avidität hatten, und bei denen sich nun niedrige ergaben, als umgekehrt. Es findet also ein für jede der beiden Gruppen charakteristischer Wechsel der Avidität in den einzelnen Phasen statt. Im Verlaufe der Revaccination selbst findet man bei derjenigen Gruppe von Versuchstieren, welche in der der Revaccination vorangehenden stationären Phase niedrige Quotienten zeigten, ein erhebliches Anwachsen des Aviditätswertes bei gleichzeitiger Titersteigerung. Es besteht also hier eine Kongruenz beider Werte, wie sie auch bei der Erstimmunisierung beobachtet wurde. Bei der zweiten Gruppe von Tieren mit hohem Quotienten in der stationären Phase erscheint diese Kongruenz erheblich gestört, weil sich der ohnehin hohe Aviditätswert im Verlaufe der Revaccination entweder gar nicht oder nur ganz wenig erhöht, ja sogar absinken kann, wogegen der Titer ansteigt.

Bei diesen experimentellen Untersuchungen war das zeitliche Moment der Bindung maßgebend und trat die Vollständigkeit derselben in den Hintergrund. Ueber letztere lassen sich insofern verschiedene Angaben in der Literatur verwerten, bei denen die Absorptionsversuche (CASTELLANIscher Versuch) verschiedene Resultate

ergeben haben, welche bei nahestehenden, verwandten Bakterien zur Differenzierung verwendet (z. B. Fleischvergifter, Dysenteriebacillen), bei agglutinatorisch geschlossenen Arten wie Choleravibrionen, Typhusbacillen als Variationen im Rezeptorenapparat gedeutet wurden. Meinicke bezog die in seinen ausgedehnten Untersuchungen mit Jaffé & Flemming gefundenen großen Unterschiede in der Absorptionskraft einzelner Cholerastämme auf Aviditätsunterschiede.

Einen weiteren Einblick in die Aviditätsverhältnisse der Agglutinine gewähren uns Versuche von v. Eisler & Laub, welche auch die Avidität der Agglutinine des Normalserums studiert haben. Sie fanden, daß diese Agglutinine zum Unterschied von denen des Immunserums gleiche Avidität besitzen. Das Erhitzen normaler Sera kann eine beträchtliche Abnahme der Avidität zur Folge haben. In anderen Fällen aber tritt trotz beträchtlicher Agglutininverluste keine Abnahme der Avidität im erhitzten Serum ein, ja es kann zuweilen durch das Erhitzen sogar eine Steigerung der Avidität zustandekommen. Die Extraktion normaler Rindersera mit Aether hatte trotz der dadurch bedingten Zunahme der Viskosität weder auf den Agglutiningehalt noch auf die Avidität der Sera einen Einfluß. Für die untersuchten Typhusimmunsera konnte weder durch Erhitzen noch durch Aetherbehandlung eine Aenderung der Avidität bewirkt werden.

Trotz der hier angeführten Versuchsergebnisse sind wir derzeit nicht in der Lage, uns eine klare Vorstellung über das Wesen der Avidität zu bilden. Wir können daher auch nicht die Frage beantworten, warum das eine Tier Antikörper mit hoher Avidität, das andere solche mit niederer bildet, ist uns ja der Mechanismus der Antikörperbildung überhaupt noch nicht in seinen Details bekannt.

Jedenfalls aber dürfte auch die Vorstellung Berechtigung haben, daß nicht die chemische Beschaffenheit der Antikörper allein für ihre Avidität ausschlaggebend ist, sondern daß vielmehr feinste Veränderungen des kolloiden Milieus, in dem sie enthalten sind, für den Grad der Avidität von einschneidender Bedeutung seien. In diesem Sinne sprechen namentlich die Beobachtungen über Aviditätsänderung durch Lagern der Sera, das wohl immer mit kolloidalen Zustandsänderungen verbunden ist. Schon bei den im Vergleich zum Blutserum außerordentlich einfach zusammengesetzten Lösungen kolloidaler Metalle sehen wir eine weitgehende Abhängigkeit ihrer Wirksamkeit von der Beschaffenheit ihrer Teilchen, namentlich mit Rücksicht auf ihre Größenanordnung und gegenseitige Lagerung. Auch bei den kolloidalen Metallösungen beobachten wir eine viel größere Wirksamkeit frischer Lösungen, als solcher, die bereits längere Zeit gestanden sind (vgl. Bredig[1]). Um so mehr können also kolloidale Zustandsänderungen in einem so komplizierten Medium, wie es das tierische Blutserum darstellt, Schwankungen seiner Funktionen, also auch der Avidität, nach sich ziehen, wobei berücksichtigt werden muß, daß eben wegen der außerordentlich komplizierten Zusammensetzung des Mediums die Verhältnisse nicht so einfach liegen können, wie z. B. bei den Metallösungen, so daß schon ganz geringfügige Veränderungen in einer Richtung durch gegenseitige Beeinflussung der zahllosen im Blutserum enthaltenen Körper weitgehende Prozesse auslösen können; namentlich ist dabei wieder an Aenderungen in der Oberfläche und Größenordnung der Kolloidteilchen zu denken.

c) Ueber die Bindung des Agglutinins und der agglutinablen Substanz.

a) Die quantitativen Verhältnisse und die Art der Bindung.

Eisenberg & Volk verfolgten systematisch die quantitativen Gesetze der Bindung des Agglutinins und der agglutinablen Substanz; sie untersuchten bei gleichbleibender Menge agglutinabler Substanz und steigender Menge Agglutinins die von den Bakterien abzentrifugierte Flüssigkeit auf Vorhandensein oder Fehlen von Agglutinin; das Verhältnis der absorbierten Menge von Agglutinin zu der ursprünglich zur Absorption gebotenen ergab den relativen Grad der Absorption, den Absorptionskoëffizenten. Als Einheit der agglutinablen Substanz diente 1 ccm einer Aufschwemmung einer Typhusagarkultur in 15 ccm Kochsalzlösung, welche mit derselben Menge der jeweiligen Serumverdünnung versetzt wurde; als Einheit des Agglutinins galt jene Menge, welche gerade hinreichte, in 24 Stunden unvollkommene Agglutination hervorzurufen, d. h. Bildung eines deutlich abgegrenzten Niederschlages mit leichter Trübung der überstehenden Flüssigkeit.

Die Absorptionsversuche mit Typhus-Pferdeseris von 45000, 20000 und 15000 Agglutinationseinheiten sind ziemlich identisch und ergeben, daß bis zur Verdünnung 1:500 resp. 1:300 die Agglutinine vollständig absorbiert werden; zur Illustration sei ein Versuch (Tab. III. Eisenberg & Volk) angeführt.

Tabelle III.

Absorptionsverhältnisse des Serums vom Pferde „Zoroaster“ III. Ag.-W. = 45000 Ag.-E.

Serum-Verdünnung	Dargebotene Agglutinationsmenge in Ag.-E.	Absolute Absorption	Absorptions-Koëffizient
$^1/_{20\,000}$	2	2	$^{20}/_{20}$
$^1/_{2000}$	22	22	$^{20}/_{20}$
$^1/_{1000}$	45	45	$^{20}/_{20}$
$^1/_{600}$	75	75	$^{20}/_{20}$
$^1/_{500}$	90	89	ca. $^{20}/_{20}$
$^1/_{200}$	225	210	$^{19}/_{20}$
$^1/_{100}$	450	400	$^{18}/_{20}$
$^1/_{20}$	2 250	1 650	$^{15}/_{20}$
$^1/_4$	11 250	6 750	$^{12}/_{20}$
$^1/_2$	22 500	12 500	$^{11}/_{20}$
$^1/_1$	45 000	22 500	$^{10}/_{20}$

Ueber die Konzentration von 1:500 resp. 1:300 bleibt ein Rest von Agglutinin zurück, und wenn auch die absolute Absorption fortwährend steigt, so wird doch mit steigender Konzentration verhältnismäßig immer weniger gebunden, der Absorptionskoëffizient wird kleiner. Die Bakterien können eine viel größere Menge Agglutinine aufnehmen als zu ihrer Verklumpung nötig ist. Das ist die von Joos als Ausdruck chemischer Verbindungen in proportionalen Verhältnissen gedeutete Tatsache. Bei anderen Immunseris können die Absorptionsverhältnisse anders sein, so treten bei einem Kaninchen-Typhusimmunserum 1:1000 erst bei der Verdünnung 1:50 freie Agglutinine in

der Flüssigkeit auf, aber selbst bei 1:2 wird nur die Hälfte des Agglutinins gebunden; bei einem Choleraserum ergab sich ein ähnliches, wenn auch modifiziertes Bild, aber immer blieb dieselbe Tatsache, daß mit hoher Konzentration zwar die absolute Absorption steigt, der Absorptionskoëffizient aber sinkt. Die Bedeutung der Konzentration zeigt sich bei den weiteren Versuchen mit Verwendung einer dichteren oder dünneren Aufschwemmung als der als Einheit angenommenen. Es ist nämlich durchaus nicht der Fall, daß etwa die doppelte Bakterienmenge die doppelte Menge Agglutinin verbraucht, sondern die Absorption verläuft im Verhältnis der jetzt zur größeren Bakterienmenge eingetretenen Verdünnung der Agglutinine; eine doppelte Bakterienmenge z. B. bedingt eine Verdünnung des Agglutinins wie 1:2, und daher sinkt der Absorptionskoëffizient von $^{16}/_{20}$ auf $^{11}/_{20}$, bei 4-facher Aufschwemmung, für welche die Agglutininmenge sich wie in einer Serumverdünnung 1:4 verhält, auf $^{12}/_{20}$; umgekehrt wird, da sich bei einer dünneren Aufschwemmung, z. B. $^{1}/_{5}$, eine Serumverdünnung 1:10 zur Menge der Bakterien wie eine 1:2 verhält, der Absorptionskoëffizient nicht $^{15}/_{20}$ sein, sondern $^{11}/_{20}$ betragen, wie bei der Serumverdünnung 1:2. Die Konzentration des Agglutinins ist eben nur eine relative zur Bakterienmenge. Es ist daher eine vollständige Absorption des Agglutinins mit einmaligem Einbringen der Bakterien nicht möglich, denn wenn man bei konzentriertem Serum auch die zehnfache Aufschwemmung in einen Kubikzentimeter einträgt, so erfolgt die Absorption doch wie in einer $^{1}/_{10}$-Serumverdünnung, d. h. $^{3}/_{4}$ des Agglutinins wird absorbiert; nur durch neuerliche Eintragung von Bakterien in die dekantierte Flüssigkeit und sukzessive Wiederholung des Vorganges ist das Serum agglutininfrei zu erzielen; das obige Pferdeserum 1:45000 ist auf diese Weise bei der 7.—8. Passage absolut agglutininfrei herzustellen. Bail mußte in seinem Versuche die Absorption 17mal wiederholen. Nur aus Serumverdünnungen 1:500 bis 1:300 läßt sich das gesamte Agglutinin mit einmaligem Eintragen absorbieren.

Die agglutinable Substanz besitzt somit keine absolute konstante Kapazität für das Agglutinin, daher kommt es, daß bereits agglutinierte Bakterien, die abzentrifugiert und gewaschen werden, bei neuerlichen Aufschwemmungen aus Serum derselben Konzentration, auch aus einer niedrigeren wieder Agglutinin absorbieren. Die Aufnahme wird geringer sein, je konzentrierter die frühere Serumverdünnung war, und je niedriger die nachfolgende ist. Bakterien, aus hohen Serumkonzentrationen in sehr niedrige gebracht, nehmen kein Agglutinin auf, sondern geben solches an die Flüssigkeit ab (Förster, Hahn & Trommsdorff, Eisenberg & Volk, Landsteiner & v. Jagič etc.). Die von Joos beobachtete Reagglutination seiner Maximalverbindungen resp. das Ausbleiben einer solchen bei der Minimalverbindung erklären sich damit.

Nach Eisenberg & Volk erfolgt die Bindung der beiden Substanzen unabhängig von Zeit und Temperatur, indem bereits nach 5 Minuten bei 37° und nach 2 Stunden bei 0° keine merkbaren Unterschiede sich finden; es besteht demnach eine große Affinität und, wenn wir die von verschiedenen Autoren betonte Bedeutung der Temperatur auf den Ablauf der Reaktion auch nicht ausschließlich auf den Ablauf der 2. Phase beziehen, wogegen die Aviditätsdifferenzen, welche P. Th. Müller und seine Mitarbeiter konstatierten, sprechen,

so dürfte das doch gewöhnlich der Fall sein. Die Absorptionsverhältnisse waren auch dieselben bei vorsichtig durch 58⁰ abgetöteten Bakterien.

Bei den Modifikationen der agglutinablen Substanz, z. B. durch Erhitzen, Säuren, wie bei der als „Agglutinoid" bezeichneten Modifikation des Agglutinins, verhält sich die Absorption verschieden. Die Abnahme der Absorption durch auf über 100⁰ C erhitzte Bacillen (144⁰ C Eisenberg & Volk), welche bei einer Serumkonzentration von 1:2 kaum die Hälfte jener Agglutininmenge binden, die normale Bakterien aufnehmen, dürfte wohl mit der gleichzeitig einhergehenden teilweisen Zerstörung von agglutinabler Substanz zu erklären sein; es widerspricht dem die Tatsache nicht, daß von der Serumverdünnung 1:100 an die Unterschiede sich ausgleichen. Bei „agglutinoid"-haltigen Seris ergibt sich eine Verminderung der Absorption, so daß z. B. bei dem oben angeführten Typhus-Pferdeserum 1:45000, dessen Agglutinationswert mit dem Altern auf 1:70000 abgesunken war, die absolute Absorption in der Serumverdünnung 1:2 nur 1000 AE = Absorptionskoëffizient $^{8}/_{20}$ statt 12500 AE = $^{11}/_{20}$ betrug (Tab. XIV Eisenberg & Volk). Diese Verminderung ist jedoch nur eine scheinbare, weil nur das aktive Agglutinin in Rechnung gezogen werden kann; das ergibt sich sehr deutlich aus dem Vergleich ihrer Aufnahmefähigkeit für neu zugegebenes Agglutinin gegenüber Bakterien aus agglutinoidfreiem Serum. Bei dem durch eine Stunde auf 65⁰ erhitzten „Zoroaster-Serum III", dessen Agglutinationswert auf 1:10000 abgesunken war, betrug der Absorptionskoëffizient in den Verdünnungen $^{1}/_{600}$—$^{1}/_{50}$ nur $^{16}/_{20}$. Die Bakterien waren inagglutinabel geworden, zeigten aber noch eine beschränkte Aufnahmsfähigkeit für neu zugegebenes Agglutinin, wie aus Tab. XXI von Eisenberg & Volk hervorgeht.

Bakterien aus inaktiviertem Serum $^{1}/_{10}$.

Serum-Verdünnung	Ag.-E.	Absolute Absorption	Absorptionskoëffizient	Abs. Koëffizient norm. Bakterien
$^{1}/_{1000}$	45	43	$^{19}/_{20}$	$^{20}/_{20}$
$^{1}/_{100}$	450	300	$^{13}/_{20}$	$^{16}/_{20}$
$^{1}/_{2}$	22 500	2500	ca. $^{2}/_{20}$	$^{11}/_{20}$

Die Kapazität der Bakterien für Agglutinin ist geringer geworden als die normaler Bakterien, namentlich größeren Mengen gegenüber, sie ist auch geringer als die von Bakterien, die aktivem Serum ausgesetzt waren; wie erwähnt, findet auch da noch weitere Absorption statt. Eisenberg & Volk fanden bei Bakterien aus Vollserum, die einer $^{1}/_{2}$ Verdünnung eines aktiven Serums 1:20000 ausgesetzt wurden, daß sie von den 10000 AE noch 5000 = $^{10}/_{20}$ absorbiert hatten. Ganz analog sind die Absorptionsverhältnisse bei Säureserum und bei dem durch Alkalizusatz, durch Formol oder Harnstofflösung modifizierten. Dieselben Verhältnisse fand Wassermann bei der Bindung des Pyocyaneusagglutinins. Karwacki & Benni fanden bei Tuberkelbacillen dasselbe Verhalten, nur war die Affinität bei denselben viel geringer als bei Typhusbacillen.

Sv. Arrhenius hat in den von Eisenberg & Volk eruierten Absorptionsverhältnissen einen speziellen Fall des Guldberg-Waage-

schen Gleichgewichtsgesetzes gesehen. Er fand für die Menge aufgenommenen Agglutinins und für den noch freien Teil desselben die Gleichung:

$$\frac{(\text{Menge des gebundenen Agglutinins})^2}{(\text{Menge des freien Agglutinins})^3} = k \text{ (Konstante).}$$

Da die Konzentrationen umgekehrt proportional den Mengen sind, so ergibt sich für dieselben die Gleichung $\frac{\sqrt{a}}{\sqrt[3]{r}} = k$, wobei a die Menge der absorbierten Agglutinationseinheiten, r die der restlichen in der Flüssigkeit bedeutet. Die Gleichung, entsprechend der von Nernst für den bei der Verteilung eines Stoffes zwischen zwei Lösungsmitteln entstehenden Gleichgewichtszustand $\frac{C_1}{C_2} = k$, besagt, daß das freie Agglutinin ein anderthalbmal kleineres Molekulargewicht besitzt, als das in den Bakterienleib aufgenommene. Arrhenius betrachtet somit den Vorgang als Verteilung eines Körpers auf zwei Lösungsmittel, gleichzeitig als einen einfachen Fall des Guldberg-Waageschen Gesetzes vom chemischen Gleichgewichte; er bezieht sich auch auf die Raschheit, mit der die Verteilung zustande käme und schließt prinzipiell, daß die Agglutinine wirklich vom Bakterienleib aufgenommen werden und nicht nur auf der Oberfläche kondensiert werden, wie es nach Bordets Anschauung der Fall wäre. Gegen diese Argumente haben später Dreyer & Douglas eingewendet, daß die Erreichung des Gleichgewichtes viel später erfolge, bei Zimmertemperatur noch in 4 Stunden nicht erreicht sei, wie bei der Adsorption von Agglutinin oder Trypsin durch Kohle, und daß aus der Schnelligkeit, mit welcher das Gleichgewicht erreicht werde, überhaupt nicht auf die Natur der Reaktion geschlossen werden könne. Die Autoren fanden, daß die Menge des gebundenen Agglutinins bis zu einer gewissen Grenze anwächst, wenn Serum in verschiedenen Konzentrationen geboten wird, um dann bei weiterer Erhöhung der Serumkonzentration auf 0 abzusinken; die Autoren finden, daß die Formel von Arrhenius weder für die Bindung der Bakterien, noch für die des Agglutinins durch homologe Bakterienfiltrate aufrecht zu halten sei. Schon früher haben Nernst, Biltz und Zangger gegen die Auffassung von Arrhenius Einsprache erhoben, indem sie in den Bindungsverhältnissen der Agglutinine Absorptionsvorgänge, nicht chemische Reaktionen sehen, Absorptionserscheinungen, wie sie für Kolloide geradezu charakteristisch sind; Landsteiner hatte bereits hinsichtlich der Agglutininabsorption (Blutkörperchen) auf die große Aehnlichkeit mit den Adsorptionsvorgängen bei anorganischen Kolloiden hingewiesen. Da Landsteiner diese Frage in diesem Handbuch ausführlich behandelt hat, so sei des weiteren darauf verwiesen („Beziehungen der Lipoide und Kolloide zur Immunitätslehre“).

Gegen die Untersuchungsresultate v. Eisenberg & Volk wurden von Neisser technische Einwürfe erhoben, wie die Verwendung lebender Kulturen bei einer Versuchsausdehnung auf 24 Stunden oder die von ihm beobachtete Instabilität von Serumverdünnungen, welche auch ohne Bakterienzusatz bei einem Aufenthalt von 2 Stunden im Brutofen niedrigere Werte als die berechneten ergeben; dieselben dürften, wenn sie an sich auch richtig sein mögen, bei den zahlreichen und großen Reihen nicht sehr in die Wagschale fallen, da eben die zahlreichen Reihen sozusagen aufeinander kontrollierend wirken, und

Fehler, die sich aus den angeführten Mängeln eingestellt hätten, beobachtet worden wären. Eisenberg und auch Volk (im Handbuch von Kraus & Levaditi) haben dieselben auch zurückgewiesen, resp. aufgeklärt.

Hervorzuheben wäre noch, was für die prinzipielle Frage wichtig ist, daß die Agglutinine selbst eines Bakteriums bei verschiedenen Tieren und Individuen sich verschieden verhalten können; Eisenberg & Volk geben an, daß bei einer Reihe von Seris (1 Pferde-, 2 Ziegensera) bei steigender Konzentration immer nur eine Agglutinineinheit gebunden wurde; Normalagglutinine folgen teilweise ähnlichen Gesetzen wie Immunsera, teilweise wurde aber auch nur eine Agglutinineinheit absorbiert.

b) Die Bedeutung der Salze.

Bereits Bordet hat gezeigt, daß zum Eintritt der Agglutination eine kochsalzhaltige Flüssigkeit notwendig ist und hat diese Beziehung in Analogie gesetzt mit der Sedimentierung resp. Fällung feinster Tonaufschwemmungen in Wasser durch Kochsalz. Joos[2] bestätigte Bordets Versuch, nach welchem salzfreie Bacillen und salzfreies agglutinierendes Serum in sonst wirksamen Konzentrationen keine Reaktion geben, daß jedoch solche Bakterien Agglutinin aufnehmen, da sie von der Serumlösung befreit, allein und unagglutiniert in einer Kochsalzlösung suspendiert, agglutinieren. Versuche in meinem Institute haben gezeigt, daß mehrmaliges Waschen der Bakterien mit destilliertem Wasser und Verwendung hoher Verdünnungen eines stark wirksamen Serums (1:40000) mit destilliertem Wasser, bereits ausreichen. Dabei zeigen die salzfreien resp. -armen Bacillen des salzfreien Serumgemenges unter dem Mikroskop ungeschmälert ihre Eigenschaften; sie sind mit Erfolg auf andere Nährboden zu übertragen, ihre Geißeln lassen sich färben. Ist die Agglutininmenge entsprechend gewählt, so gibt nach dem Zentrifugieren die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit bei Zusatz von Typhusbacillen und Kochsalz keine Agglutination; die Bakterien haben das Agglutinin aufgenommen und werden auch, durch Waschen selbst gereinigt, in einer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, jetzt ausgeflockt. Es kommt also 1. ohne Salz die Agglutination nicht zustande und 2. im salzfreien Gemenge sind jedoch die Bacillen imstande, das Agglutinin aufzunehmen, doch bleibt der sinnfällige Effekt, die Verklumpung, aus. Die zum Eintritt der Agglutination nötige Salzmenge ist so gering, daß Joos die Existenz einer wahren chemischen Verbindung annimmt, entgegen der Anschauung Bordets von einer Veränderung in der Molekularattraktion; da ferner das Salz im Bakterienniederschlage (von Friedberger widersprochen) nicht in der überstehenden Flüssigkeit sich findet, die Menge des Niederschlages mit der Salzmenge zunimmt, so schließt Joos, daß das Salz in die chemische Verbindung der agglutinierenden und agglutinablen Substanz eintritt. Friedberger bestätigt zwar Joos, findet, daß der rasche Eintritt der Agglutination dialysierter Kulturen vom Salzgehalt abhängig ist, negiert aber die chemische Verbindung und führt bereits an, daß das ClNa auch durch andere Salze (KBr, Kaliumbiphosphat) und auch organische (Asparagin, Traubenzucker*), kristallinische Körper ersetzt

*) Porges stellte es allerdings in Frage, ob diese Körper, wie sie käuflich zu haben, als Nichtleiter zu betrachten sind, da sie gegen Phenolphthalein saure Reaktion zeigen.

werden kann. In einer Erwiderung bezieht sich Joos auf die Doppelsalz- und Additionsverbindungen; er unterscheidet am Vorgang die beiden Phasen: 1. Vereinigung (Fixierung) des Agglutinins mit der agglutinablen Substanz und 2. die Vereinigung der mit Agglutinin beladenen Mikroben und Salz zu Flocken — die Niederschlagsbildung, welche einem chemischen Niederschlage zu vergleichen sei. Als Beweise für eine chemische Verbindung führt er an, daß von einer gewissen Menge Bakterien dieselbe Menge Agglutinin niedergeschlagen werde, daß Konzentration und Wärme von Bedeutung seien, und nimmt, um die bei Variation der Serumverdünnungen auftretenden Unterschiede in der Stabilität der eingetretenen Verbindung zu erklären, verschiedene, stabilere und labilere Verbindungen an, je nachdem ob eine Verbindung mit minimalen oder mit maximalen Agglutininmengen erfolgt ist, wobei letztere bei Wiederaufschwemmung im destillierten Wasser reagglutinieren, erstere nicht. „Ein Molekül agglutinierbarer Substanz bindet eine ganz bestimmte Menge Agglutinin und Salz" lautet ein Gesetz, „eine Molekül agglutinabler Substanz kann sich mit verschiedenen Mengen Agglutinin verbinden, um verschiedene Zusammensetzungen zu liefern", das andere; wie die Untersuchungen von Eisenberg & Volk ergeben, liegt diesen „Gesetzen" die Tatsache zugrunde, daß die Bindung (Reaktion) je nach der relativen Konzentration der reagierenden Substanzen abläuft.

Joos bestätigte Friedberger und führte noch weiter aus, daß außer Kochsalz auch die meisten Alkali- und Erdalkalisalze in die Verbindung eingehen und Agglutination hervorrufen. Unter den Salzen einer und derselben Reihe, Chlorid, Jodid, Bromid z. B., gibt es jedoch Unterschiede, indem sich die Agglutination in den Chloridlösungen rascher vollzieht als in denen des Jodid oder Bromid; es scheint, daß das Salz durch sein Säureradikal wirkt. Die Salze zweier verschiedener Metalle zeigen häufig keinen Unterschied, z. B. die Haloidsalze des K stimmen überein mit denen des Na und NH_4. KCl erzeugt die Agglutination in derselben Weise wie NaCl oder NH_4Cl, dasselbe gilt für NaBr, KBr und NH_4Br, für NaJ, KJ und NH_4J. Die Salze einer und derselben Base mit verschiedenen Säuren ergeben nach Joos Verschiedenheiten. Je nach der Art der Säure erscheint die Agglutination mehr oder weniger rasch in großen Flocken oder feinen Gerinnseln, die sich in verschiedenen Zeiten erst absetzen.

Die Anschauung von Furukawa, Asakawa und auch A. Fischers, daß das Salz als Lösungsmittel für das Globulin wirksam sei, die Agglutination überhaupt nur Folge der außerordentlich labilen Lösungsverhältnisse des Globulins (Fischer) sei, ist gewiß nicht richtig, denn sowohl bei den starken Serumverdünnungen als beim löslichen Pseudoglobulin (Typhusagglutinin des Pferdes) entfällt die Berechtigung zu dieser Annahme.

Eisenberg & Volk fanden, daß Neutralsalze je nach der Konzentration bald einen fördernden, bald einen hemmenden Einfluß auf die Agglutination haben und suchten diese Wirkung durch den jeweiligen Einfluß des Salzes auf die agglutinable Substanz oder des Agglutinin zu eruieren; teilweise fanden sich solche Beziehungen, indem manche das Agglutinin modifizieren ($MgCl_2$ 3 n, KCl 1 n und 3 n, $CaCl_2$ 2 n, $Mg(NO_3)_2$ $^1/_2$ n), andere die agglutinable Substanz so veränderten, daß die Bakterien inagglutinabel werden, wie durch ges. $CaCl_2$, $MgCl_2$, $Mg(NO_3)_2$, wogegen andere wie ges. $(NH_4)_2SO_4$, $MgCl_2$

2n, $Mg(NO_3)_2$ $^1/_2$n keine Beeinflussung zeigten; da $MgCl_2$ in höheren Konzentrationen die agglutinierbare Substanz verändert, so steht seine absolut hemmende Wirkung der Agglutination bei dreifacher Normallösung im Einklang — $Mg(NO_3)_2$ hemmt in allen Konzentrationen die Agglutination, was sich aus der Beeinflussung der agglutinablen Substanz und des Agglutinins erst bei $^1/_2$n nicht erklärt. Die Autoren fanden ferner in Anlehnung an Versuche PAULIS, daß 2 Salzkonzentrationen, von denen jede für sich keine Hemmung ausübt, summiert ausgesprochene Hemmung bewirken, z. B. NaCl n + $MgCl_2$ n, während letzteres gar keine, nClNa nur Herabsetzung auf die Hälfte zur Folge hat.

Während ALTOBELLI & MEMMO nur Vermutungen aufstellten, in welcher Weise die Mineralsubstanzen von Bedeutung für die Agglutination wären, durch Fällung der Proteine, oder Beeinflussung der Osmose oder Aenderung der Molekularattraktion und Adhäsion, haben NEISSER & FRIEDEMANN, BECHHOLD, FRIEDEMANN[2] die Rolle der Salze für unorganisierte und für Bakteriensuspensionen genauer studiert. Sie stellten die Schwellwerte fest, d. i. jene geringste Salzkonzentration, bei welcher nach 24 Stunden noch die Ausflockung erfolgt. Es ergab sich, daß kein prinzipieller Unterschied zwischen der Ausflockung von Bakterien, Agglutininbakterien und unorganisierten Suspensionen bzw. Kolloiden besteht.

Bakterien werden durch Säuren und durch die Salze der Schwermetalle in sehr geringer Konzentration gefällt, während die Salze der Alkalien und alkalischen Erden und Erdmetalle erst in außerordentlich hoher Konzentration wirksam sind; hierin verhalten sie sich wie Eiweißkörper und werden auch durch Nichtelektrolyte wie Alkohol, Formalin gefällt. Dabei steht der Schwellwert der Salze in einer gewissen Relation mit der Entladungsspannung der Metalle: die Kationen mit niedriger Entladungsspannung besitzen ein hohes, die mit hoher Entladungsspannung ein sehr geringes Fällungsvermögen; doch gibt es auch Unregelmäßigkeiten in der Reihe, die Relation ist deutlich bei den einwertigen, weniger bei den zweiwertigen, fehlt bei den dreiwertigen Kationen. Ganz anders verhalten sich die mit Agglutinin beladenen Bakterien, indem diese wie unorganisierte echte Suspensionen schon durch geringe Salzkonzentrationen ausgeflockt werden, wie es aus nachstehender, der Arbeit von NEISSER & FRIEDEMANN entnommenen, verkürzten Tabelle zu entnehmen ist. Salze, die, wie ClNa, Na_2SO_4, $MgSO_4$ in den stärksten Konzentrationen Bakterien nicht fällen (vgl. unten PORGES), flocken Agglutininbakterien schon in geringen Konzentrationen aus (von TEAGUE & BUXTON bestätigt); Säuren besitzen für beide dasselbe, die Schwermetallsalze ein mäßig stärkeres Fällungsvermögen für die Agglutininbakterien; es ist also die Herabsetzung des Schwellwertes bei den Salzen mit hoher Entladungsspannung eine viel stärkere als bei denen mit niedriger. Die Agglutininbakterien verhalten sich wie unorganisierte echte Suspensionen; es ist daher die Wirkung der Salze auf Agglutininbakterien im Sinne BORDETS aufzufassen, analog der Salzfällung suspendierter Tonpartikel. Durch die Absorption des Agglutinins wurde die Suspension der Bakterien eine viel labilere, wie denn die Wirkungsweise des Agglutinins, die noch besprochen werden soll, vollständig mit der eines fällenden Kolloids zu identifizieren ist.

	Normallösungen der Salze	Mastix (dichte Emulsion)	Bakterienaufschwemmung	Agglutininbakterien	Metalle nach Entladungsspannung geordnet
	NaCl	1	∾	0,025	Na
	$NaNO_3$	.	∾	0,025	Rb
	Na_2SO_4	.	∾	0,025	H. Hg
	RbJ	.	∾	0,025	Ag
	H_2SO_4, HCl	0,005	0,001	0,001	
	$C_2H_4O_2$	0.005	0,001	0,001	
			0,001	0,001	
	$AgNO_3$	0,5	0.025	0,001	
	$HgNO_3$	0,0025	0.001	0,0005	
2-wertige Kationen	$MgSO_4$	0,1	∾	0,0025	Mg
	$ZnSO_4$	0,1	0,01	0,001	Ba
	$CaCl_2$	0,05	∾	0,005	Ca
	$BaCl_2$	0,05	∾	0.005	Zn
	$Ko(NO_3)_2$	0,05	undeutl. Aggl.	0,0025	Cd
	$Ni(CH_3CO_2)_2$	0,025	0,025	0,0025	Ko, Ni
	$Ca(NO_3)_2$	0,025	0,01	0,001	Pb
	$CuSO_4$	0,01	0,0025	0,0001	Cu
	$CuCl_2$	0,01	0,0025	0,0005	Hg
	$Pb(NO_3)_2$	0,005	0,0025	0,0001	
	HgCl	∾	0,0025	0,0005	
3-wertige Kationen	$Fe_2(SO_4)_3$	0,0005	0,0005	0,001	
	$Al_2(SO_4)_3$	0,0005	0,00025	0,00025	

Dabei ist nach Teague & Buxton noch immer nicht notwendig, daß ein enger Zusammenhang zwischen der Ausflockung von Bakterien und unorganisierten Teilchen bestehen müsse; ein unterschiedliches Verhalten sei z. B. das Auftreten von Vorzonen, die anorganische Suspensionen nicht zeigen; Serum hindert oder verzögert die Ausflockung unorganisierter Suspensionen (Schutzkolloid), während es für die Ausflockung von Agglutininbakterien ohne Einfluß ist. Doch dürfte man in diesen Verhältnissen, die aus der Natur der suspendierten Teilchen hervorgehen, kaum prinzipielle Verschiedenheiten in bezug auf den Mechanismus der Fällung der Suspension statuieren können.

Nach Porges[3] werden alle Bakterien durch Ammonsulfat gefällt, und, wie bei den Eigenschaften der agglutinablen Substanz bereits angeführt worden ist, geht die Agglutinabilität der Bakterien parallel mit ihren Salzfällungsgrenzen. Choleravibrionen werden bei 30 Proz. Ammonsulfatsättigung unvollkommen, bei 40 Proz. vollkommen ausgeflockt, Bac. Friedländer erst bei 70 Proz. Sättigung; Choleravibrionen können schon durch ClNa ausgeflockt werden („Spontanagglutination"). (Die entgegenstehenden Angaben von Neisser & Friedemann sowie Bechhold, daß NaCl, Na_2 SO_4 etc. normale Bakterien in keiner Konzentration fällen, beziehen sich auf Konzentrationen, bei denen Eiweißfällung nicht in Betracht kommt, vgl. Porges). Somit und mit der vollständigen Reversibilität des Salz-Agglutinats ergeben sich dieselben Verhältnisse wie für die Salzfällung der Eiweißkörper (Hofmeister). Nach Porges besteht analog, wie Bordet und namentlich Joos annehmen, für den Eintritt der Agglutination eine Relation zwischen Agglutination und Salz in der Richtung, daß mit steigender Menge des Agglutinins die zur Agglutination erforderliche Salzmenge abnimmt. Der diesbezügliche interessante Versuch ist folgender:

Serumverdünnung.

Gehalt an NaCl	$^1/_{10}$	$^1/_{20}$	$^1/_{50}$	$^1/_{100}$	$^1/_{500}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{2000}$	$^1/_{5000}$	$^1/_{10000}$	
θ	+	Spur	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	1
0,0002 N-Lösung	+	part.	Spur	θ	θ	θ	θ	θ	θ	2
0,002 "	+	+	+	+	part.	Spur	θ	θ	θ	3
0,02 "	+	+	+	+	+	+	+	part.	Spur	4
0,2 "	+	+	+	+	+	+	+	"	"	5
0,04 *) "	+	+	+	+	part.	Spur	θ	θ	θ	6
2,06 "	+	+	+	+	+	+	+	part.	Spur	7

Auch Friedemann fand, daß Bakterien durch salzfreies Serum agglutiniert werden, doch scheinen hierbei, wie er selbst annimmt, die Globuline eine Rolle zu spielen. Für das Ausflockungsvermögen des Agglutinins fand auch Porges, daß die Wertigkeit der Kationen von ausschlaggebender Bedeutung ist. Er sieht aber auch in der Agglutination nicht eine einfache Summierung des Agglutinins und der Salzwirkung, sondern findet die Analogie in der fördernden Wirkung, welche auch die Fällung zweier Kolloide sowohl anorganischer (Biltz, Porges) als auch organischer (Neisser & Friedemann, Bechhold) durch Salze erfährt; Mastixemulsion wird durch geringe an sich nicht fällende Mengen von Gelatine, Serum, Blutegelextrakt (Neisser & Friedemann), bei Zusatz kleiner Salzmengen gefällt, wie auch die Fällung von Eisenoxyd und Kieselsäure durch $^1/_{10}$ n-NH_4NO_3 gefördert wird (Porges).

c) Das Agglutinat.

Hahn & Trommsdorff fanden, daß der Bakterienniederschlag, das Agglutinat, durch $^1/_{100}$ n-Natronlauge oder sehr geringe Säurelösung bei 37° C durch 1 Stunde digeriert, gelöst wird, wobei die obenstehende Flüssigkeit ein geringes spezifisches Agglutinationsvermögen erhält; bei Digerieren in physiologischer ClNa-Lösung ist dies nicht der Fall. Auch Landsteiner fand in seinen Versuchen mit Reich an agglutinierten roten Blutkörperchen eine Dissoziation der Verbindung, bei den Normalagglutininen stärker als bei Immunagglutininen. Eisenberg & Volk bestätigen wohl Hahn & Trommsdorff bezüglich der Lösung der Verbindung, fanden, daß auch Formol und Harnstofflösung analog den Angaben von Blum und Spiro über die Eigenschaft dieser Körper, gewisse koagulierte Eiweißkörper zu lösen, wirksam sind, geben aber nichts an von Wiedererscheinen des Agglutinins; wohl aber fanden sie die Bakterien immer inagglutinabel, wie das Joos bereits eruiert hatte. Joos hatte dem Verhalten des Präzipitates entsprechend seiner Anschauung von einer chemischen, in bestimmten Mengenverhältnissen stattfindenden Verbindung der drei Substanzen eine besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Er fand, daß Erwärmen auf 60° C das Agglutinat löst, und daß bei neuerlicher Suspension in destilliertem Wasser keine Reagglutination stattfindet, auch nicht bei Zusatz von Salz oder von Agglutinin; da keine der reagierenden Substanzen durch Erhitzung auf 60° C eine wesentliche Schädigung erfährt, so schloß er auf die Bildung eines neuen Körpers, welcher durch die Temperatur von 60° C beeinträchtigt wird. Weil[2], der 90° C als die beste Temperatur für die Desagglutination fand,

*) Kontrolle.

bezieht diese auf die Schädigung der agglutinablen Substanz. Ballner & v. Sagasser konnten auch die Angaben von einer Dissoziation der Verbindung nicht bestätigen, denn sie erhielten, wenn die agglutinierten Bakterien durch Waschen von anhaftendem Agglutinin befreit waren, bei Digerierung in ClNa-Lösung, Lauge oder Säure auch bei hoher Temperatur keinen Agglutiningehalt in der überstehenden Flüssigkeit. In einer zweiten Publikation geben Landsteiner & Reich zu, daß die Reversibilität der Agglutininabsorption bei Bakterien eine recht unvollkommene ist, trotzdem die Absorptionsversuche nur 2 Stunden bei 7—8° C und 1 Stunde bei 55° dauerten, und eine ebenso lange Zeit für die Spaltung in ClNa auch bei 7—8° C und bei 55° C verwendet wurde, wobei die höhere Temperatur weitaus günstiger ist. Eisenberg findet im zeitlichen Moment einen wesentlichen Faktor für die Reversibilität, je länger die beiden Körper aufeinander eingewirkt haben, desto weniger ist die Verbindung reversibel, immer ist die Reversibilität unvollkommen.

Die Frage nach der Natur der Agglutininverbindung resp. ihrer Spaltung oder Dissoziation hat eine Bedeutung für die Natur des Agglutinationsvorganges selbst; Joos hatte, wie erwähnt, aus dem Entstehen eines neuen, in seinen Eigenschaften von denen der reagierenden Körper verschiedenen Körpers auf einen chemischen Vorgang geschlossen. Landsteiner führte aus, daß die mangelhafte Reversibilität des Prozesses auch gegen die aus den Zahlen Eisenbergs & Volks von Arrhenius geschlossene Verteilung des Agglutinins zwischen zwei Lösungsmitteln spreche; allerdings nahm auch Arrhenius an, daß nachträglich in den Bakterien möglicherweise eine chemische Verbindung zwischen dem Agglutinin und einem Teil der Bakteriensubstanz stattfinde. Es müßte aber dann doch vorher eine ausgiebigere Reversibilität, Uebergang des Agglutinins ins neue Lösungsmittel, vorhanden sein. Die Irreversibilität spricht zweifellos für ein Unlöslichwerden der Substanz (Nernst) oder Koagulieren (Landsteiner), die bei Kolloiden langsamer oder schneller eintretend zu beobachten ist und mit der Absorption des Agglutinins im Bakterienkörper sehr gut übereinstimmen würde. Für die Agglutination der roten Blutkörperchen nimmt Arrhenius eine Koagulation an, die sich besonders an den äußeren Schichten des geformten Eiweißes geltend macht.

Teague & Buxton sehen im Agglutinat einen neuen Körper, der ein anderes Ausflockungsvermögen besitzt, wie irgendein Stoff der Normalbakterien und durch sehr viele Elektrolyte gefällt und ausgeflockt wird, die Normalbakterien nicht beeinflussen (s. oben Bedeutung der Salze).

Ueber die Antigennatur des Reaktionsprodukts besteht keine Einigkeit; den Versuchen von Rehns[3], Nicolle & Trénel[1], welche auf Injektion agglutinierter Bakterien hohe Agglutininwerte erhielten, wird mangelhafte Absättigung vorgehalten, da Neisser & Lubowski die gesättigte Verbindung weder agglutinogen fanden, noch ein anderes Reaktionsprodukt (Antiagglutinin) erhielten, ebenso Fonteyne. Die Untersuchungen Toyosumis lauten entgegen; er erhielt mit dem Präzipitat von Normalserum und Cholerasubstanz oder -bacillen alle Reaktionsprodukte der beiden Körper: ein Serumpräzipitin, Lysin (analog wie Pfeiffer & Friedberger), Agglutinin und Präzipitin für Cholera; mithin würde die Verbindung im Tierkörper gespalten werden.

Für Normalagglutinine hat LANDSTEINER auch eine leichtere Abspaltung gefunden; aber auch für mit Immunagglutinin gefällte Typhusbacillen bringt O. SCHWARZ die Beobachtung vor, daß dieselben antigen wirkten, und daß das Serum zunächst nur Agglutininbakterien agglutinierte (vielleicht wurde dadurch die Agglutination von anderen Autoren übersehen), erst bei weiterer Immunisierung auch native; allerdings ist die Stabilität der Suspension von Agglutininbakterien sehr labil, so daß sie auch von anderen Seris leichter ausgeflockt werden.

VIII. Agglutination und Präzipitation.

Die beiden Tatsachen, erstens die präzipitierende Eigenschaft agglutinierender Sera auf Kulturfiltrate und Bakterienextrakte, zweitens die agglutinogene Wirkung solcher Lösungen legen innige Beziehungen zwischen der Agglutination und der Präzipitation nahe; dieselben finden sich weiter darin, daß diese Präzipitation dieselbe Spezifizität hat wie die Agglutination und bei den einzelnen Mikroorganismen denselben Gesetzen folgt wie die letztere, so z. B., daß Colifiltrate nur durch ein Immunserum des homologen Coli gefällt werden (R. KRAUS[10]), und daß sich mit der Mitagglutination parallel einhergehende Partialpräzipitine finden (vgl. KRAUS, dieses Handbuch, Präzipitine, Spezifizität der Reaktion). Es liegt auch nahe, anzunehmen, daß es jeweilig dieselben Substanzen sind, welche in Reaktion treten, das eine Mal noch in oder an den Bakterienzellen, das andere Mal frei in der Flüssigkeit, sozusagen als freie Rezeptoren der Bakterien. Dieselben führen im Tierkörper zur Entwickelung von Gegenkörpern, welche sowohl mit den in den Zellen befindlichen reagieren (Agglutination) als auch mit den in der Flüssigkeit gelösten (Präzipitation); die agglutinable oder agglutinogene Substanz wäre demnach identisch der präzipitierenden oder präzipitogenen, das Agglutinin identisch mit dem Präzipitin. Die reagierenden Körper wären demnach einheitlicher Natur. KRAUS & SENG entwickelten denn auch die Anschauung, daß bei der spezifischen Agglutination die spezifisch agglutinierbare (agglutinierte) Substanz es ist, welche teils in der Bouillon in Lösung vorhanden ist, teils dem Bakterienkörper anhaftend bei Zusatz von homologem Serum den spezifischen Niederschlag bildet, analog der künstlichen Agglutination, bei der auch meist Eiweißkörper oder kolloidale Substanzen durch Chrysoidin, Alkohol usw. gefällt werden, wobei die Mikroorganismen oder feinste, mikroskopische, anorganische Partikel (Tusche) agglutinieren. Die Agglutination zertrümmerter Tuberkelbacillen (KOCH) oder zerriebener Diphtheriebacillen, vielleicht auch die Präzipitation einer Emulsion aus erweichten leprösen Lymphdrüsen (GAUCHER & ABRAMI), oder Knoten (SUGARI) durch Serum von Leprakranken, könnte als eine Art Zwischenform zwischen Agglutination und Präzipitation betrachtet werden, indem hier der Niederschlag, teils aus den geschädigten Bacillen, teils aus frei gewordenen und gelösten Körpersubstanezn besteht. Ob LEDDINGHAMS Agglutination von Hippomelanin auch hierher gehört oder der Effekt eines Präzipitins ist (Serum nur 1:10 wirksam!), ist noch nicht untersucht.

Einen direkten Uebergang der Bakterienkörpersubstanz in präzipitable Substanz demonstriert NEUFELD[1] an der Präzipitation der

durch Kaninchengalle gelösten Pneumokokken, wobei der Niederschlag aus schwachbrechenden, hyalinähnlichen Massen von kugeliger oder länglicher Form in der Größe roter Blutscheiben und darüber besteht. Diese Niederschläge würden somit noch etwas an die organisierte Form erinnern, sowie Nicolle[3] bereits die Niederschläge aus alten Colikulturen als sehr ähnlich den Mikrobenhaufen beschrieb. Und doch gibt es gewisse Unterschiede!

Zunächst wäre auf einen allerdings nur quantitativen Unterschied zwischen Agglutinin und Präzipitin aufmerksam zu machen, auf die Differenz der Mengen, in welchen jeder der Körper reagiert; das Agglutinin ist noch in geradezu kolossalen Verdünnungen wirksam (van de Velde[5]; Typhus-Pferdeimmunserum in der Verdünnung von 1:1000000 wirksam), die Präzipitine wirken in geringen Verdünnungen 1:10—1:40, während man die reagierenden Eiweißlösungen außerordentlich verdünnen kann; dazu kommt noch (vgl. S. 566), daß der größte Teil des Präzipitates aus dem Immunserum stammt, während bei den hohen noch wirksamen Verdünnungen der agglutinierenden Sera der Eiweißgehalt dieser minimal ist.

Dieser quantitative Unterschied braucht kein essentieller zu sein und könnte eine Erklärung mit der Vorstellung finden, daß für die um das Tausendfache, gegenüber den unter der Grenze der mikroskopischen Sichtbarkeit gelegenen Partikelchen der kolloidalen agglutinablen Materie, größeren Bakterien viel geringere Mengen Agglutinins (Präzipitins) genügen, um dieselben so zu beeinflussen, daß sie zusammenflocken und bei ihrer relativen Größe bald sichtbar werden, während für jene feinsten Teilchen größere Mengen präzipitierender Substanz notwendig wären, bis sich makroskopisch sichtbare Flocken bilden. Es ist nicht auszuschließen, daß eine mikroskopische Methode uns noch in den präzipitablen Flüssigkeiten, bei der Reaktion, lange bevor es zum sichtbaren Niederschlag kommt, feinste Aggregate sichtbar machen wird.

Auch in der zeitlichen Differenz des Entstehens der Präzipitine, welche Gaehtgens in übrigens von Fukuhara, v. Amiradzibi & Kaczynski bestrittenen Befunden (Schichtprobe! vgl. Kraus dieses Handbuch) im Serum infizierter Tiere bereits nach 24 Stunden nachgewiesen haben will, gegenüber dem der Agglutinine, die nicht vor dem 2. Tage erscheinen sollen, möchte ich keinen zwingenden Grund finden, eine Verschiedenheit der Substanzen anzunehmen; eine schnellere Resorption einer leichter resorbierbaren Zustandsphase des antigenen Eiweißmoleküls könnte die zeitliche Differenz ungezwungen erklären.

Es besteht aber noch mehrfach kein vollständig analoges Verhalten zwischen den Agglutininen und Präzipitinen. So fand Pick, daß erwärmtes Typhusimmunserum Typhusbouillonfiltrate nicht mehr präzipitiere, wohl aber agglutiniert, und Winterberg, daß erwärmte Kulturfiltrate nicht präzipitiert, erwärmte Bacillen aber von demselben Serum agglutiniert werden. Ganz wesentlich spricht für die Verschiedenheit des Agglutinins und des Präzipitins die von Pick konstatierte Tatsache, daß beim Pferde das Typhusagglutinin am Pseudoglobulin hängt, während die Präzipitine (Serumkoaguline) sich in der Euglobulinfraktion finden. Endlich sprechen auch die Ausfällungsversuche von Radziewsky, Beljaeff und Bail für die Verschiedenheit der Agglutinine und Präzipitine. Ersterer fällte

Colifiltrate mit dem zugehörigen Immunserum und prüfte die Agglutination der Flüssigkeit auf Coli, BAIL hat die Versuche an Typhusbouillonfiltraten durchgeführt, immer zeigt die abzentrifugierte Flüssigkeit unveränderte Agglutination, obwohl Zusatz von neuem Filtrat (BAIL) keine Trübung macht, wohl aber Zusatz von Serum (also kein Ueberschuß von Serum, wohl aber von koagulabler Substanz vorhanden war). BRIEGER & MAYER fanden im Immunserum, welches mit einem ziemlich weit abgebauten Derivat von Typhusbacillen hergestellt worden war, Agglutinin und kein Präzipitin. Diese Tatsachen würden dafür sprechen, daß die Agglutinine von den Präzipitinen vollständig zu trennen sind.

Es kommt nun zweifellos darauf an, gerade das Optimum in der Konzentration der reagierenden Körper (übrigens ein typisches Verhalten bei der Fällung von Kolloiden) zu treffen, damit die Fällung möglichst umfänglich ausfalle; daher fanden KRAUS & PIRQUET in analogen Versuchen wie BAIL bei Zusatz von Serum im Verhältnis 1:100 oder 1:200 eine beträchtliche Abnahme der Agglutinationsfähigkeit bis auf $^1/_5$, ja auf $^1/_{10}$ des ursprünglichen Titers, ebenso WASSERMANN bei einem Gemenge von 18 ccm Pyocyaneusfiltrat und 2 ccm Immunserum eine Abnahme von 1:1200 auf 1:10, ASAKAWA vollständige Absättigung des Agglutinins; daher können Bakterienextrakte auch die Agglutination hemmen (BÜRGERS & HÖSCH).

Nach noch nicht publizierten Versuchen meines Assistenten GUST. HOFER kann diese Hemmung bei verschiedenen Stämmen verschieden intensiv sein; bei derselben Versuchsanordnung (Aufschwemmung von Typhusbacillen in 10-tägigem Typhusbouillonfiltrat) wurde die Agglutination des einen Stammes von 1 : 6000 auf 1 : 2000 herabgedrückt (in Bouillon und ClNa 1 : 6000 komplett, 1:10 000 partiell, in Typhusbouillonfiltrat 1:2000 komplett, 1:3000 partiell) die eines anderen fast gar nicht beeinflußt (in Bouillon und ClNa 1:6000 komplett, 1:10 000 partiell, im Filtrat 1:6000 komplett, 1:8000 partiell). Der Vorgang ist allem Anschein nach komplex und wirken noch andere Faktoren mit; darin dürfte auch die Erklärung für die Versuche BAILs zu finden sein, der die spezifische Natur dieser Hemmung leugnet.

RODET sah bei normalen Seris durch Absorption mit Bacillen die agglutinierende wie die präzipitierende Fähigkeit des Serums verschwinden, wie auch NEUFELD bei der Agglutination die Präzipitine fast vollständig, in viel höherem Maße als bei der Präzipitation, gebunden fand. Der von KOLLE für die Verschiedenheit der beiden Substanzen betonten Tatsache endlich, daß erhitztes Serum im allgemeinen die Fähigkeit zu präzipitieren verliert, kommt gewiß keine prinzipielle Bedeutung zu, indem nach SPÄT die Temperatur 70—75° betragen muß, besonders aber weil hierbei das Bindungsvermögen des Agglutinins für die präzipitable Substanz erhalten bleibt: Typhusbouillonfiltrat, mit erhitztem, noch agglutinierendem Typhusserum versetzt, verliert die Fähigkeit, durch frisches Immunserum ausgefällt zu werden. KRAUS war daher geneigt, für beide Substanzen eine gemeinsame haptophore Gruppe mit verschiedenen fällenden Gruppen anzunehmen, wobei die präzipitierende, die thermolabile, weniger widerstandsfähig ist als die agglutinierende; erstere ist aber noch imstande, präzipitable Substanzen zu binden.

Nun sind die reagierenden Körper sehr mannigfach: weder die agglutinogene Substanz der Bacillen, noch das Agglutinin sind einheitlich zusammengesetzt.

Es sei an die bekannte, bei höherer Temperatur eintretende Modifikation der agglutinablen Substanz der Bakterien sowohl als der präzipitablen löslichen Substanzen (Kraus & Joachim[1]) erinnert, an das diesbezüglich verschiedene Verhalten sogar von Agar- und Bouillonkulturen, die das eine Mal von einem Serum agglutiniert werden, das andere Mal nicht, wie bei den Filtraten, und andererseits wieder das identische Verhalten der agglutinablen und präzipitablen Substanz gegen die Temperatur von 100° C, in welcher beide die bei 65—70° C verloren gegangene Fällbarkeit wiedergewinnen, ebenso an die Modifikation der Agglutinine und Präzipitine durch Erwärmen (Joos[1], Eisenberg & Volk[1], Kraus etc.), an die Verschiedenheit der Thermoresistenz der Agglutinine verschiedener Bakterien (z. B. Choleraagglutinin und Typhusagglutinin). Wenn nun auch für den Ausfall der Reaktion die jeweilig durch die Modifikation des Bakterienproteins oder des Agglutinins eingetretene größere oder geringere Labilität der Suspensionen resp. der kolloidalen Lösungen maßgebend sind, so ist andererseits auch der gleichzeitig so und so oft mit einhergehende Zustand des Antigens für die Variation der Reaktionsprodukte nicht ohne Einfluß.

So wird die Mannigfaltigkeit der reagierenden Körper, die lebenden und die durch Erhitzen abgetöteten Bakterienzellen, die durch Auslaugen lebender oder abgestorbenen Bakterienkörper, die durch Einwirkung verschiedener Fermente mehr oder weniger abgebauten agglutinogenen und präzipitinogenen Substanzen, endlich die gereinigten gegen Kochen mit Säuren widerstandsfähigen Koaguline Picks ohne Biuretreaktion und ihre mehr oder weniger noch reagierenden künstlichen Abbauprodukte — dafür von Bedeutung sein, daß die Art der jeweiligen Immunprodukte zweifellos in gewisser Beziehung beeinflußt wird, entsprechend dem jeweiligen Zustande, in dem sich die bakteriellen Eiweißkörper mit der reagierenden spezifischen Gruppe befinden. Joos hat zuerst auf die Verschiedenheit der Immunsera aufmerksam gemacht, die vom Zustand des zur Immunisierung verwendeten Bakterienmaterials abhängt; ein mit lebenden Typhusbacillen erzeugtes Immunserum besitzt im allgemeinen eine beschränktere Agglutinationsfähigkeit (keine oder nur verminderte für erwärmte Bacillen) gegenüber dem mit bei 62° C abgetöteten Bacillen hergestellten, erzeugt aber in Filtraten massigere Niederschläge; unsere eigene Erfahrung bei der Immunisierung von Pferden mit Typhusbacillen, die Kolles bei Choleravibrionen ergaben dasselbe, nach Fonteyne stiege der Titer bei lebenden Typhusbacillen rascher; hierher gehören die Beobachtungen von Kraus & Joachim über die Unterschiede der Agglutinine und Präzipitine nach Höhe und Umfang bei Immunisierung mit Filtraten, die Bails[1] bei Immunisierung mit Typhuskulturen und Typhusperitonealexsudaten (reichlichere Niederschläge auch noch durch das erhitzte Serum). Rodet & Lagriffoul haben bei Immunseris, hergestellt mit Typhusbacillen oder ihren löslichen Produkten, mannigfache Unterschiede gefunden, unter denen die geringe Ausbeute an Agglutinin und Präzipitin bei Verwendung alkoholischer Derivate von Bacillen und Filtraten bemerkenswert ist. Přibram fand (nicht publizierte Versuche) das Filtrat A (Lösung des in Alkohol unlöslichen Niederschlages einer filtrierten Typhusbacillen-Aufschwemmung in ClNa-Lösung) besser agglutinogen, es präzipitierte aber weniger, während Filtrat K (der

alkohollösliche Anteil des Filtrates) besser präzipitiert, aber weniger agglutinogen war; in einem Versuche präzipitierte aber nur A, K nicht. Die Sera präzipitierten sowohl Filtrat als Niederschlag, aber immer besser das Filtrat.

Uebersehen wir nun die Mannigfaltigkeit der reagierenden Körper, sowohl der agglutinogenen und präzipitogenen Substanzen als auch der Agglutinine und Präzipitine, so finden wir große Analogien zu den Tatsachen, die bei den Präzipitinen aufgedeckt worden sind. Dieselben haben OBERMAYER & PICK veranlaßt, zweierlei Spezifizität zu unterscheiden, die eine, welche durch die Abstammung des Eiweißes bestimmt wird, die originäre (z. B. Typhusbacillen), und die konstitutive, die von der Gesamtstruktur des Moleküls, von der Zustandsphase abhängig ist, in welcher sich das betreffende Eiweißderivat befindet. Wie das Reaktionsprodukt auf bei 70° erhitztes Rinderserum eine größere Reaktionsbreite besitzt als das auf das native Rinderserum, so verhält es sich auch mit dem Immunserum auf erwärmte Bacillen gegenüber dem durch lebende Typhusbacillen erzeugten.

PORGES[3] konnte zwar diese zustandsspezifischen Agglutinine durch Absorption nicht trennen und vermutet, daß ihre Spezifizität anderweitig begründet sei; er verweist hierbei auf die Unterschiede, die KRAUS & PRIBRAM bezüglich der Bindung der Agglutinine an die präzipitable Substanz des Serums gefunden hatten, die auch für den Ausflockungsvorgang von Belang sein können.

Ueber eine ganz ähnliche Strukturveränderung am Bakterienplasma, welche bis zu einem gewissen Grad auch in der Spezifizität des Reaktionsproduktes zum Ausdruck kommt, wie solche OBERMAYER & PICK durch verschiedene chemische Umsetzungen, z. B. durch die Einwirkung von Neutral- und Metallsalzen, Paarungen etc. erzielten, konnte O. SCHWARZ durch die Einführung von Metallionen erreichen; Sublimatbakterien geben z. B. ein Immunserum, welches auf diese stärker und früher einwirkt als auf native Bakterien; sehr interessant und, wie früher erwähnt, den Angaben in der Literatur widersprechend ist die Tatsache, daß es gelingt, mit Agglutininbakterien beim Kaninchen ein Serum zu erzeugen, welches zunächst nur auf diese einwirkt und erst bei weiterer Immunisierung auch anders vorbehandelte Bakterien ausflockt; allerdings kommt hierbei auch die Labilität der Suspension von Agglutininbakterien mit in Betracht. Eine bis zur Gewinnung einer neuen Spezifizität reichende Veränderung des Bakterienprotoplasma konnten ALTMANN & RAUTH durch Kultur eines Bact. coli auf karbolhaltigem Nährboden erzielen, indem das mit diesem Karbol-Coli erzeugte Serum nur dieses agglutinierte, den Ausgangsstamm aber nicht.

Bei weit abgebauten Bakterienderivaten ergaben sich dieselben Analogien. Wie das biuretfreie Präparat OBERMAYER-PICKs noch imstande war zu immunisieren, so erzeugte das BRIEGER-MAYERsche Präparat von Typhusbacillen noch Agglutinine und nach KRAUS & JOACHIM noch Präzipitine zwar nicht auf das Präparat selbst, wohl aber auf Bakterienauszüge. Ein biuretfreies und durch Alkohollöslichkeit vom ursprünglichen Bakterienleibe weit abliegendes Derivat PICKs rief im Typhusimmunserum noch Niederschläge hervor, analog wie ein anderes durch Trypsinverdauung und nachträgliche Gerbsäurefällung hergestelltes Präparat; dieselben gleichen der von OBERMAYER & PICK gefundenen, gegen Trypsinverdauung resistenten präzipitablen Substanz des Rinderserums. Auf andere Analogien habe ich bereits gelegentlich hingewiesen, so z. B. auf das Ansteigen der Nebenagglutinine bei Immunisierung mit einem Bakterium, ähnlich wie im OBERMAYER-PICKschen Versuche des Wiedererscheinens eines Rinderpräzipitins

bei Immunisierung eines 3 Monate vorher mit Rinderserum behandelten Kaninchens mit Pferdealbumosen neben dem Pferdepräzipitin; auch der Einfluß der Immunisierungsdauer auf den Umfang des Reaktionsproduktes; zunächst den homologen Stamm, oder einige Rassen (z. B. bei Typhusbac., FALTA & NOEGGERATH Choleravibrionen, KRAUS & ZEKI) und erst später das Auftreten der ganzen Artspezifizität, vergleichbar dem zunächst nur auf gekochtes, dann erst auf natives Serum einwirkenden Reaktionsprodukte gekochten Rinderserums.

Wir hätten somit z. B. in den Bouillonfiltraten von Typhusbacillen noch solche Derivate des Bakteriums, welche die Agglutinine binden, wodurch sich der Verlust an Agglutinin bei der Präzipitation erklärt; in größerer Menge sind Substanzen vorhanden, welche mit Präzipitinen in Verbindung treten. In eigens darauf gerichteten Versuchen kann man vielleicht auch finden, daß außer der Konzentration auch der Umstand von Bedeutung ist, daß das eine Mal mehr, das andere Mal weniger solcher Körper vorhanden sind, die mit den Agglutininen reagieren, wodurch eventuell die widersprechenden Versuche verschiedener Autoren eine Erklärung finden würden.

Nach dem früher Angeführten scheint eine Analogie auch so weit zu bestehen, daß, wie für die Eiweißkörper, auch bei den Bakterien die wirksamsten agglutinierenden und koagulierenden Immunsera erhalten werden, wenn das molekulare Gefüge des Bakterienkörpers nicht allzusehr alteriert ist, sondern bei einer Zustandsänderung, die zwischen der nativen Form und dem Zerfall eine mittlere Phase einhält. Ist die gegebene Veränderung des molekularen Gefüges von diesem Zustande weit entfernt, hat der Abbau den reaktionsfähigen Anteil mitergriffen, so treten überhaupt keine Reaktionsprodukte bei der Immunisierung mehr auf (vgl. E. P. PICK, dieses Handbuch). Damit kommen wir zu der Vorstellung, daß die präzipitogenen und die agglutinogenen Eigenschaften des Bakterienkörpers zwei verschiedenen Zustandsänderungen desselben Eiweißkörpers entsprechen. Ich habe darauf hingewiesen, daß es nicht leicht gelingen wird, scharf abgegrenzte Zustandsphasen des Bakterieneiweißes zu erhalten, die auch biologisch einheitlich wirken würden, also nur agglutinogen. Es wird daher stets Uebergänge geben, so daß die Immunprodukte nicht einheitlich sind. Damit findet die Tatsache, daß ein Bakterienderivat, das nach chemischen Begriffen als einheitlich anzusehen ist, ein mehrfach wirkendes Serum, ein agglutinierendes und ein präzipitierendes gibt, seine Erklärung, indem noch immer Zustandsphasen bestehen, welche teils dem nativen Bakterieneiweiß, teils dem seiner Derivate entsprechen. Mit Berücksichtigung der bereits früher hervorgehobenen Unterschiede des tierischen Organismus ist auch die Möglichkeit vorhanden, daß die jeweiligen Immunprodukte eines und desselben Eiweißkörpers chemische Differenzen zeigen und sich scharf trennen lassen, wie es bei der von PICK gefundenen Trennung der Agglutinine und Koaguline im Pferdeserum der Fall ist. Für die chemische Differenz wird höchstwahrscheinlich der Zustand und die Zustandsänderung des nativen Eiweißes, seiner Bestandteile, der molekulare Bau des Derivats usw. von Bedeutung sein. Biologisch hängen die Substanzen doch von der Spezifizität des Eiweißkörpers ab, von dem sie abstammen, und der Reaktionsvorgang ist derselbe. Ich kann hier nur dieselbe Formulierung bezüglich des Verhältnisses der Agglutinine und Präzipitine wiederholen, die ich an anderer Stelle[1] bereits ausgesprochen habe. „Unter Akzeptierung dieser Anschauungen würde demnach

der Streit über die Verschiedenheit oder Identität der agglutinogenen und der präzipitogenen (koagulinogenen) Substanz der Bakterien sozusagen müßig erscheinen; die chemische Verschiedenheit gestattet weder die Annahme, daß die Substanzen selbständig, im Bakterieneiweiß vorgebildet sind, noch, daß sie identisch sind; als Derivate desselben nativen Eiweiß lösen sie biologisch Reaktionsprodukte aus, die auf den jeweiligen Zustand des Bakterieneiweißes oder seiner reagierenden Derivate gleichsinnig und spezifisch einwirken."

Agglutination und Präzipitation als Teilerscheinungen einer identischen biologischen Reaktion desselben Eiweißes finden wir nur bei den Bakterien; selbst Blutkörperchen und Blutflüssigkeit (Bordet) sind nicht zu vergleichen, sondern nur, wie Ford ganz richtig bemerkt hat, Blutkörperchen und eine Lösung derselben; es haben auch die Agglutinine der roten Blutkörperchen zu den Präzipitinen des Serums zunächst keine Beziehung, wenn sie auch präzipitable Substanzen sind (Landsteiner & Prašek). Die Bakterien und ihr flüssiges Nährsubstrat allein sind in gewisser Beziehung adäquat spezifisch. Die hiermit gegebene Formulierung wird von verschiedenen Autoren akzeptiert, so von Kruse, Nicolle („die Antikörper der Zellen sind dieselben wie des ungeformten Eiweißes und unterscheiden sich nicht prinzipiell"), Lehmann („mindestens nächstverwandte Körper"), Neufeld („es scheinen bei unseren Agglutinations- und Präzipitationsversuchen wenigstens zum größten Teil die gleichen Stoffe in Reaktion zu treten").

IX. Die Theorien über Agglutination.

Die ersten Theorien wurden teils auf Grund der Beobachtung, teils auf Grund von Annahmen oder gar Beziehungen zu Niederschlagsbildungen aufgestellt.

So ging die erste Vorstellung Grubers über den Mechanismus des Agglutinationsvorganges von der Annahme aus, daß die Bakterien kleberig werden und auf diese Weise verklumpen und Haufen bilden; diese Annahme konnte jedoch nur bei beweglichen Bakterien das Phänomen erklären. Da aber weder Veränderungen an den Geißeln, noch auch eine Verquellung der Zwischensubstanz bei dem Fadenwachstum zu sehen ist, so gab Gruber[3] selbst zu, daß seine Erklärung nicht zutreffend sei; aber auch durch seine Modifikationsannahme von klebriger Rauhigkeit an der Oberfläche der Bakterien infolge Einwirkens des Immunserums (wenn die Bakterien wie Filtrate durch Immunserum gefällt werden) konnte er die Erscheinung für unbewegliche Bakterien nicht erklären. Gruber[3] kam zur Hilfshypothese von Bewegungen in der Flüssigkeit und dergleichen. Nahe der Theorie Grubers stand jene Nicolles, der als Wesen der Agglutination eine Koagulation und Verklebung der Außenschichten unter dem Einflusse des Agglutinins annahm. Wie die Vorstellung Grubers fällt auch die Theorie Nicolles damit, daß keine morphologischen Veränderungen an Hüllen und Geißeln zu sehen sind. Dasselbe gilt für die Theorie Dineurs, welche sich wesentlich auf die Annahme der Veränderung der Geißeln stützte. Asakawa hat die Anlagerung, der klebrigen Agglutinoglobuline als Ursache der Klebrigkeit beschuldigt, ohne experimentelle Beweise zu erbringen. In neuerer Zeit hat J. Loeb für die Agglutination von Seeigeleiern durch HCl eine

ähnliche Annahme gemacht, indem er hierbei die Eier hantelförmig durch ein Zwischenstück verklebt findet, das aus Eiersubstanz besteht und in alkalischer Flüssigkeit erhalten bleibt. Dies spricht nach Loeb für eine syrupartige Veränderung der Oberfläche. Für die Bakterienagglutination bietet diese Erscheinung aber keine Erklärung.

Der Anschauung von Emmerich & Loew, ebenso der von Malvoz wurde bereits Erwähnung getan, beide müssen, wie überhaupt die Annahme von chemischen Substanzen (Köhler[3]) als Ursache der Agglutination abgelehnt werden, da sie mit vielen Tatsachen unvereinbar ist.

Ich habe Anfang 1897 die Entdeckung von R. Kraus mit dem Mechanismus der Agglutination in Beziehung gebracht und wurde hierzu vornehmlich durch die Erscheinung bei unbeweglichen Bakterien, wie Pestbacillen und Pneumobacillen, veranlaßt: „Ein in der Flüssigkeit vor sich gehender Gerinnungsvorgang würde dieselben hervorrufen können und auch mit der Unabhängigkeit des Vorganges der Agglutination selbst vom Leben der Bakterien in Uebereinstimmung stehen.“ Dabei hatte ich eine Gerinnselbildung in der unmittelbarsten Nähe, an der Oberfläche der Bakterien angenommen, und nicht das Entstehen von Niederschlägen frei in der Flüssigkeit, durch welche die Bakterien mechanisch mitgerissen werden würden.

In einer Diskussion mit Gruber, in welcher er sich gegen eine Beziehung der Niederschlagsbildung zur Agglutination aussprach, bemerkte ich (1899), daß beide Hypothesen nicht absolut unvereinbar seien. Die Unsichtbarkeit des Niederschlages sei kein Argument gegen seine Existenz, die Klebrigkeit der Bakterien kann man nicht sehen, sei nur Annahme, es sei aber dermalen „noch nicht auszuschließen, ob nicht durch das Serum eine Substanz aus den Bakterien gezogen werde, welche mit einer im Serum vorhandenen sozusagen gerinne, wobei die Bakterien eine Veränderung im Sinne des Klebrigwerdens erleiden könnten. Bei diesem Vorgange würden die letzteren immobilisiert und in Häufchen zusammengeballt.“ Die Vorstellung ging somit dahin, daß die Niederschläge an den Bakterien sozusagen als Zentren der Niederschlagsbildung entstehen, ähnlich wie bei der Fibringerinnung die ersten Fibrinfäden an zelligen Elementen aufschießen. Konfluenz kleinster Gerinnselbildungen und allmähliche Retraktion derselben könnte ganz allgemein für bewegliche wie für unbewegliche Bakterien die Häufchenbildung erklären.

Allerdings haben Kraus & Seng Niederschlagsbildungen als den einheitlichen Vorgang bei der spezifischen und nichtspezifischen Agglutination angenommen. Unter ihren Versuchen sind auch solche, bei denen die suspendierten Teilchen durch den Niederschlag in der Flüssigkeit mitgerissen werden (Fällung von Karmin, Ultramarin in Bouillonaufschwemmung durch Alkohol). Sie haben aber auch Versuche, bei denen der Niederschlag zunächst nur in der nächsten Umgebung der suspendierten Teilchen entsteht, wie die Ausfällung einer wäßrigen Aufschwemmung von Tusche durch Alkohol; hier haftet Gummi an den feinsten Tuscheteilchen, der durch Alkohol gefällt wird, wobei die Tuschekörnchen zu Flocken zusammengeballt werden.

Die Untersuchungsergebnisse Löwits, dem es gelungen ist, zwischen dem agglutinierten Mikroben stets eine homogene Zwischensubstanz durch Färbung nachzuweisen, scheinen damit in Uebereinstimmung zu stehen. Da Löwit auch an noch isolierten Bakterien rosa oder rotviolett gefärbte Anhängsel verschiedener Formen beob-

achtete, und bei Desagglutination durch Wärme, Säure, Alkali, die Zwischensubstanz in dem agglutinierten Haufen, wie die Anhängsel an isolierten Mikroben verschwinden sah, so kam er zum Schlusse, daß diese tinktoriell nachweisbaren Niederschläge als ein wesentliches Moment der Agglutination angesprochen werden dürfen.

Mit diesen Befunden Löwits würde eines der gegen die Theorie hauptsächlich erhobenen Argumente, die Nichtsichtbarkeit der Niederschläge (Gruber, Meyers u. a.) hinwegfallen. Andere Einwürfe, wie der von Neufeld[1] und anderen, daß die Präzipitatniederschläge sich erst nach Stunden entwickeln, sind nicht stichhaltig, da jene aus vielleicht um das Tausendfache kleineren Partikeln sich entwickelnden Aggregate viel länger brauchen, um zu makroskopisch sichtbaren Flocken heranzuwachsen, als die aus den um so viel größeren Bakterien bestehenden. Auch ein anderer Einwand von Neufeld, nämlich die Tatsache, daß bei der Agglutination der Pneumokokken (auch Streptokokken) keine regellose Aneinanderlegung der Kokken, sondern kettenartige, wie im natürlichen Wachstum erfolgt, verliert seine Bedeutung, wenn man berücksichtigt, daß, wie Löwit die Niederschlagsbildungen an den Bakterien als Anhängsel fand, bei den Kokken der Pol, mit welchem dieselben im normalen Verbande sind, diejenige Stelle der Bakterienzelle ist, an der der Austritt, die Diffusion der agglutinablen (Rodet & Lagrifoul) Substanz und die Wirkung des Agglutinins statt hat.

Für diesen Vorgang, Entstehen der spezifischen Niederschläge primär, während die eigentliche Zusammenballung erst sekundär zustande kommt, hat Scheller instruktive experimentelle Beiträge geliefert; schüttelt man Typhusbacillen in einer ziemlich konzentrierten Verdünnung (1:200) eines hochwertigen Immunserums (1:25000) kräftig durch einige Zeit, so tritt keine Agglutination ein, obwohl die Prüfung der abzentrifugierten Flüssigkeit beträchtliche Abnahme im Agglutiningehalt zeigt; dabei zeigte sich, daß sofortiges Schütteln nach der Herstellung der Aufschwemmung durch kurze Zeit (1 Minute) das nachträgliche Auftreten der Agglutination nicht behindert; schüttelt man nach 5 Minuten durch 1 Minute, so ist die Agglutination nur mehr spurweise vorhanden, geschieht das 1 Minute lange Schütteln nach 10 Minuten, so bleibt dieselbe vollständig aus. Scheller nimmt daher an, daß die chemische Reaktion eintritt, der folgende, wie er sich ausdrückt, mehr mechanische Vorgang, den ich mit der Retraktion eines Fibringerinnsels verglichen habe, durch das Schütteln dauernd verhindert wird; die agglutininbeladenen Bakterien agglutinieren auch bei weiterem Serumzusatz und Stehen im Brütschrank nicht. Scheller versucht eine Erklärung dahin, daß die Präzipitate in statu nascendi sekundär die Agglutination der Bakterien bewirken; durch Homogenisierung der Präzipitate unterbleibe der sichtbare Agglutinationsprozeß, das Zusammenballen.

Die Agglutination der Bleibakterien (S. 573) gibt andererseits ein Beispiel, wie durch Vorgänge im Bakterienkörper (Fällung des adsorbierten Bleisalzes durch H_2S) es zur Ausflockung kommen kann; allerdings kann bei demselben Vorgang während der Kultur die Suspension erhalten bleiben.

Calcar, der für die nahe Beziehung zwischen Agglutination und Präzipitation eintritt, stützt sich allerdings auf nicht beweisende Versuche; denn weder die mit der Fällung von Globulinen eintretende Agglutination einer Bakteriensuspension, noch Agglutination heterologer, in ein präzipitierendes Gemisch von Kulturfiltrat und homologem Immunserum eingetragenen Bakterien sind vollgültige Argumente. In beiden Fällen handelt es sich um „Pseudoagglutination", die in verschiedenster Weise (z. B. auch Eintragen von NaOH in Typhusbacillenkultur) hervorgerufen wird.

In einer gewissen Beziehung subsumiert sich diese Niederschlagstheorie auch der chemisch-physikalischen, welche Bordet aufgestellt hat. Anfänglich (1896) sah er den Vorgang als einen rein physikalischen an, da auch tote Bakterien das Phänomen zeigten, und er nahm an, daß die aktive Serumsubstanz die Bakterien so verändere, daß sie wie andere leblose Partikel einer Suspension durch leichte Einflüsse unter Haufenbildung ausfallen, welcher Prozeß nach physikalischen Gesetzen ablaufe, analog der Fällung der Tonerdesuspensionen durch Salz. Dineurs Beobachtung von der Beschleunigung der Reaktion durch Schütteln trifft bei organisierten Suspensionen, bei Eiweißniederschlägen auch zu. Der scheinbare Widerspruch zu Schellers Beobachtung dürfte, wie Scheller selbst angibt, in der Intensität des Schüttelns liegen.

Als Bordet später (1899) die Bedeutung der Salze für die Agglutination erkannt hatte, zog er in ausgedehnterem Maße physikalische Niederschlagsbildungen als Analogie heran. Sein maßgebender Versuch bildet das Ausbleiben der Reagglutination von in destilliertem Wasser aufgeschwemmten, agglutinierten und abzentrifugierten Bakterien und Eintritt derselben bei Zusatz geringer Salzmengen. Er sieht in demselben eine Analogie zur Ausfällung von Ton- usw. Suspensionen durch Salze. Bordet fußte dabei auf der Anschauung von Duclaux über den Vorgang der Koagulation überhaupt, die bei anorganischen Solen-, Leim-, Eiweißlösungen usw. kolloidalen Flüssigkeiten mit dem Aneinanderschließen, Agglomerieren der feinsten suspendierten, unter dem Mikroskop unsichtbaren Teilchen, unter Eintritt des Tyndallschen Phänomens zustande kommt. Allmählich entwickeln sich makroskopisch sichtbare Flocken. Die farbigen kolloidalen Lösungen, wie Metallsolen (Bredig, Henry), zeigen auch Farbenwechsel; die rote Farbe kolloidalen Silbers geht bei tropfenweisem Zusatz von 10-proz. $NaNO_3$ ins Dunkelviolette, Violette, Grauviolette und schließlich ins Graue über. In saurer, makroskopisch nicht geronnener Milch erkennt man mikroskopisch feinste Körnchen in Häufchen, die beginnende Koagulation des Kaseins. Duclaux stellt dieselbe in Analogie mit den Ton- und Mastixausflockungen und findet keinen prinzipiellen Unterschied zwischen den mikroskopischen Aggregaten und der makroskopischen Flockenbildung. Bei dieser Betrachtung ist auch die Kaseinkoagulation eine Agglutination. Bei diesen Koagulationen spielen die Salze eine große Rolle. Spuren von $CaCl_2$ erzeugen Koagulation einer Lösung von Schwefelantimon, kolloidaler Kieselsäure, einer Tonaufschwemmung, in der Milch bei Zusatz von Lab. Alle diese Flüssigkeiten würden ohne Zusatz von $CaCl_2$ ihre homogene Beschaffenheit bewahren. Da diese Ausflockungen auf eine Aenderung der Molekularattraktionen zurückgeführt werden, bezeichnet auch Bordet die veränderte Molekularattraktion mit Duclaux als die Ursache der Agglutination. Duclaux selbst spricht die Agglutination als einen Koagulationsvorgang der Bakterienaufschwemmung an, als Vereinigung von Teilchen, die früher gleichmäßig verteilt waren, verursacht durch Störung der Adhäsionsverhältnisse zwischen Bakterienkörper und umgebender Flüssigkeit. Da es aber schwierig ist, sich vorzustellen, fährt Duclaux fort, daß ein Bakterium gerade das Attraktionszentrum bildet, so wird man zur Annahme gedrängt, daß in der Flüssigkeit eine koagulable Substanz vorhanden sei, in welcher die Punkte, an welcher die Koagulation be-

ginnt, zu Zentren der Koagulation werden, wie bei der Fibringerinnung.

Bordet unterscheidet 2 Phasen, die erste, *période d'impression*, Beeinflussung der noch isolierten Elemente von seiten des Agglutinins, und eine zweite, — die *agglutination proprement dite* — in der sich die Teilchen infolge der veränderten Molekularattraktion wie leblose Partikel verhalten und aggregieren.

Nach dem allen, was wir über die Bindung des Agglutinins und der agglutinablen Substanz kennen gelernt haben, wonach diese für sich ohne Verklumpung eintreten kann, besteht kein Zweifel, daß diese Teilung des Vorganges in 2 Phasen berechtigt ist. Doch erscheint in Bordets Vorstellung der Vorgang des ersten Stadiums zu wenig präzisiert, indem er hierfür auch wesentlich physikalische Kräfte voraussetzt, ebenso stellt er die Rolle des Salzes bei der Agglutination jener bei der Ausflockung eines Tonsuspension gleich. Diesbezüglich hat Joos bereits darauf aufmerksam gemacht, daß das Salz in die Agglutinationsverbindung eintritt, während bei der Klärung der Tonaufschwemmung oder der Koagulation eines Metallsalzes, auch bei der Koagulation mancher organischer Kolloidlösungen der fällende Zusatz im Koagulum sich nur in Spuren findet. Nach Milton, Crendiropoulo & Miss Sheldon Arno hat sogar ein bestimmtes Salz für die Agglutination gewisser Bakterien eine fördernde Wirkung, z. B. $CaCl_2$ für Choleravibrionen, für andere aber nicht. Anderseits ist es richtig, daß für die 2. Phase der Vorgang bei der Klärung von Suspensionen etc. große Aehnlichkeit besitzt.

Ich habe bereits bei verschiedenen Gelegenheiten auf die Bedeutung der kolloidalen Natur der Substanzen wie des Milieus verwiesen, wie auch auf die große Aehnlichkeit des Bindungsvorganges mit Adsorptionsvorgängen bei Kolloiden, so daß die Anschauung sehr begründet ist, diesen Eigenschaften eine wesentliche Bedeutung zuzumessen, gegenüber der ausschließlich strukturchemischen Vorstellung, welche Ohno mit mathematischen Formeln gegen die Bordets, auch Arrhenius zu beweisen trachtet.

Es ergeben sich nun folgende Fragen 1) ob beide Vorgänge, die Adsorption (Bindung) und die nachfolgende Ausflockung auf denselben Vorgang zurückzuführen sind, so daß auch die hohe Spezifizität der reagierenden Körper mit wesentlich physikalischen Vorgängen zu erklären sei, oder ob 2) die beiden Phasen doch insoweit verschieden wären, daß die erste Phase eine wesentlich chemische Reaktion, allerdings beeinflußt durch die kolloidale Natur der Körper, vorstelle, während die 2. Phase physikalischen Gesetzen folge.

Sowohl Duclaux als Bordet und die Autoren, welche zuerst die kolloidale Natur der Immunkörperreaktionen, speziell der Agglutination und Präzipitation vertreten haben, wie Zangger, Biltz, Pauli, Friedemann, Porges, namentlich Traube sehen überhaupt in der Reaktion einen physikalischen Vorgang, während Landsteiner, Zunz sie als eine elektrochemische Reaktion betrachten, dem sich E. Pick (dieses Handbuch, Bd. 1, p. 702) anschließt, „indem nur eine Vorstellung, welche in gleicher Weise die chemischen und physikalischen Eigentümlichkeiten berücksichtigte“, den Tatsachen Rechnung trage. Wenn nun diese Fragen in diesem Handbuch im allgemeinen in den Darstellungen von E. Pick und besonders von Landsteiner behandelt sind, erscheint es doch zweckmäßig, das speziell auf die Agglutination bezügliche Material zusammenzutragen, um der Erkenntnis des Mechanismus näher zu kommen.

Rekapitulieren wir die bereits früher angeführten Tatsachen, so wäre zunächst die kolloidale Natur der Immunkörper wohl nicht

zweifelhaft (vgl. auch E. Pick, Landsteiner in diesem Handbuche), ferner stellten Neisser, Friedemann & Bechhold eine weitgehende Analogie zwischen der Agglutination der Bakterien unter dem Einfluß von Elektrolyten mit hoher und niedriger Entladungsspannung sowie von Säuren mit dem Verhalten des Eiweiß diesen Elektrolyten gegenüber fest, welche Uebereinstimmung durch die analoge Einwirkung einiger Nichtelektrolyte (Alkohol, Formalin), die Eiweißgerinnung und Bakterienagglutination hervorrufen, noch gesteigert wurde; das verschiedene Verhalten der Bakteriensuspension gegenüber den Salzen der Alkalien und alkalischen Erden hat Porges dahin aufgeklärt, daß diese (NH_4Cl, MgCl, und auch NaCl) in denselben Konzentrationen als sie Eiweiß fällen, auch Bakterienagglutination verursachen. Es liegt damit nahe, auch in der Bildung einer unlöslichen Verbindung in den Bakterien selbst die Ursache ihrer Zusammenflockung zu suchen; für eine derartige Veränderung der agglutinablen Substanz durch das Agglutinin spricht das eigentümliche Verhalten der Agglutininbakterien, welche durch minimale Dosen von Salzen, welche eine natürliche Bakterienaufschwemmung nicht oder nur schwer fällen, ausgeflockt werden, und auch unter dem Einfluß des elektrischen Stromes agglutinieren, während gewöhnliche Bakterien entsprechend ihrer negativen Konvektion zur Anode wandern. Weiter fanden Neisser & Friedemann im Verhalten eines Gemisches von Mastix und Gelatine — zweier Kolloide, eine weitgehende Analogie, indem dieses auch durch viel niedrigere Salzkonzentrationen und wie Agglutininbakterien auch beim Durchgang des elektrischen Stromes ausgeflockt wird.

Nachdem bereits in den für die Bindung des Agglutinins von Eisenberg & Volk eruierten Gesetzen die große Aehnlichkeit zwischen den charakteristischen Absorptionsvorgängen bei den Kolloiden erkannt worden war, hat Porges, der bekanntlich die Abhängigkeit der Agglutinabilität auf den Proteingehalt der Bakterien (proteinarme Choleravibrionen — proteinreiche Kapselbacillen) zurückführt, die Identität der Agglutination mit der Fällung zweier Kolloide noch weiter dadurch festgestellt, daß wie bei Zunahme der fällenden Kolloide die minimal erforderliche Salzkonzentration sinkt, dies auch bei den bei der Agglutination reagierenden Substanzen der Fall ist, und daß Ueberschuß derselben wie ein Ueberschuß von Kolloiden zur Hemmung der Reaktion führt.

Für die Fällung von Kolloiden durch Kolloide haben Hardy, Lindner & Picton bereits verschiedene elektrische Ladung derselben nachgewiesen; nach Biltz besteht eine gewisse Aequivalenz zwischen negativem und positivem Kolloid. Bredig, analog auch Lillitzer, halten den Elektrizitätsaustausch, welcher beim Mischen entgegengesetzt geladener Kolloide stattfindet, für die Ursache der Sedimentierung. Dieser allein scheint jedoch für die Ausflockung nicht maßgebend zu sein; nach Buxton braucht der Wechsel der Ladung nicht von einer Ausflockung begleitet zu sein (z. B. in den „Nichtausflockungszonen"). Patton hält den Ladungswechsel für einen Vorgang sekundärer Natur; nach Spring würde die Schelligkeit der Uebertragung der Ionen mit dem Auftreten der Flocken im Verhältnisse stehen.

Eiweiß ist ob seiner amphoteren Natur sowohl durch positive als durch negative Kolloide fällbar; in Kolloid- (Suspensions-) Eiweißmischungen hat Salzzusatz einen hemmenden und fällungsfördernden Einfluß wie z. B. im Gemische von Mastix und Gelatine; durch subnormale Salzkonzentrationen und im elektrischen Strom werden

diese analog den Agglutininbakterien ausgeflockt, weshalb NEISSER & FRIEDEMANN annehmen, daß auch bei den Agglutininbakterien ein Gemisch von Kolloiden vorliege. Für denaturiertes Rinderserumalbumin (Suspensionskolloid) hat MICHAELIS nachgewiesen, daß seine Flockung in einer bestimmten sauren Lösung stattfindet und diese im isoelektrischen Punkte ihr Optimum erreicht; dieser ist verschieden von dem des nativen Albumins, welches aber im isoelektrischen Punkt nicht ausflockt. Es geht somit im allgemeinen die Flockung von Kolloiden häufig mit dem Ausgleich der elektrischen Ladung einher, doch müssen beide Erscheinungen nicht zusammenfallen.

Das scheint nun namentlich bei der Flockung mehrerer Kolloide der Fall zu sein; so zeigten MICHAELIS & DAVIDSOHN für ein Gemisch zweier amphoterer Kolloide, deren Verbindung ausflockt, daß das Flockungsoptimum zwischen den isoelektrischen Punkten der Komponenten liegt und in gewissen Grenzen unabhängig vom Mengenverhältnisse der Komponenten ist.

PAULI (vgl. selbe Stelle in der 1. Aufl.) findet keinen wesentlichen Unterschied zwischen der Agglutination von Bakterien und dem Zusammenflocken feiner Niederschläge, und betont dabei den Prozeß der Oberflächenänderung der Bakterien. Auch FRIEDEMANN rekurriert auf die Volumsverminderung infolge des Wasseranziehungsvermögens der Salzionen bei der Fällung von Kolloiden und zitiert die Theorie der Elektrostriktion von DRUDE & NERNST; die Größe dieser Kontraktion wurde durch KOHLRAUSCH & HELLWACHS und VALSON bei den verschiedenen Elektrolyten gemessen, und es fand sich bemerkenswerterweise, daß die Ionen sich nach der durch sie bewirkten Kontraktion in dieselbe Reihe ordnen ließen, wie nach ihrem Fällungsvermögen für Eiweiß.

Außer der älteren Wasserentziehungstheorie von HOFMEISTER nähert sich die von WETHAM und WRIGHT[1] als „Elektrotaxistheorie“ der von DRUDE & NERNST; sie geht von der Annahme aus, daß das Wasser infolge seiner größeren Dielektrizitätskonstante in das elektrische Feld der Ionen hineingezogen werde und so die Kolloidteilchen gewissermaßen auspreßt. WRIGHT hat dieselbe in der Art auf die Agglutination übertragen, daß er für die chemische Verbindung, welche zwischen dem Agglutinin und der agglutinablen Substanz des Bakterienprotoplasma entsteht, die Annahme macht, daß sie die Beziehung zwischen der Leitungsfähigkeit der suspendierten Partikel und dem Wasser ändert.

TRAUBE legt in seiner Theorie auf Oberflächenkräfte den Schwerpunkt; er nimmt an, daß Stoffe von geringem Haftdrucke und fremden Phasen, welche im Wasser suspendiert sind, unter gewöhnlichen Umständen, auf Grund der an der Oberfläche wirksamen Kräfte nicht zur Berührung gelangen, daß dies aber möglich ist unter dem Einfluß von Katalysatoren, welche in spezifischer Weise befähigt werden, mit den gebildeten Komplexen in Reaktion zu treten. In seiner „Resonanztheorie“ formuliert er das Antigen als ein Ferment, welches abgestimmte Moleküle hervorbringt — Molekularkomplexe — deren Energiequantenzahl in einem solchen Verhältnisse steht zur Energiequantenzahl auf der Oberfläche der Antigenteilchen, daß namentlich bei geeigneten Mengenverhältnissen (Optimis) der Mischung Präzipitationen, Agglutinationen usw. in analoger Weise erfolgen wie bei der Mischung entgegengesetzt geladener Kolloide.

Ramsden fand, daß, wenn man Stoffe verschiedener Oberflächenenergie, die chemisch nicht miteinander reagieren, in wäßrigen Lösungen mischt, sich stets der eine mit mehr oder weniger vollständiger Ausschließung des andern an der Oberfläche anhäuft; in wäßrigen Mischungen von Saponin-Eieralbumin, Gallensalzen-Saponin oder -Seife oder -Schwefel, Eieralbumin-Karmin konzentriert sich stets die erstgenannte der beiden Substanzen in der Oberfläche; R. meint, für die Vorgänge der Agglutination und Präzipitation könne etwas Aehnliches gelten.

Nach Duclaux ist die Stabilität der Suspension bedingt durch das Vorhandensein der Molekularbewegung, die nach Bredig noch durch die gegenseitige Abstoßung der gleichgeladenen Teilchen unterstützt wird; ein weiteres Moment ist die innere Reibung der Suspensionsflüssigkeit, die aber ihrerseits die Amplitudengröße der Brownschen Schwingungen herabsetzt (Svedberg). Jede Hemmung der Brownschen Molekularbewegung durch Aenderung der Ladung führt zur Störung des Gleichgewichtes, zur Ausflockung (Linder, Picton), ebenso die Herabsetzung der Amplitude der Schwingungen durch Erhöhung der inneren Reibung oder durch Zunahme der Teilchengröße, nicht minder durch Aenderung des elektrischen Potentials der suspendierten Partikel. Wir sehen also, daß alle diese Vorgänge, welche mit Aenderung des elektrischen Potentials, der Teilchengröße, der inneren Reibung und Oberflächenspannung rechnen, zur Agglutination führen und miteinander in Wechselbeziehung stehen.

Fassen wir den ganzen Vorgang der Agglutination als die Reaktion zwischen einem Emulsions- und einem Suspensionskolloid auf, bestehend in einer Adsorption des einen Kolloids durch das andere, so resultiert eine Zunahme der Teilchengröße der suspendierten Partikel; die aus derselben einhergehende Aenderung des Potentialgefälles infolge Kapazitätsverminderung und Entladung sistiert die Molekularbewegung der Suspensionen, so daß diese dem Gesetze der Schwerkraft folgen. Mit einher geht ferner eine Aenderung der Oberflächenspannung und inneren Reibung der Gesamtflüssigkeit, auch Aenderungen in der Adsorptionskraft der Kolloide für die in der Lösung vorhandenen Salze. Wir sehen somit, daß der Vorgang in der ersten Phase Bordets die Erscheinungen der zweiten nach sich zieht, daß es in dieser Beziehung richtig ist, daß der Vorgang bei der spezifischen und der nicht-spezifischen Agglutination derselbe ist und physikalischen Gesetzen folgt. Und doch müssen wir angesichts der hohen Spezifizität auf die chemische Konstitution der miteinander reagierenden Kolloide rekurrieren. Michaelis hat bereits vor Jahren darauf aufmerksam gemacht, daß die hohe spezifische Affinität des Agglutinins zu seinem spezifischen Substrat in keiner Weise dadurch erklärt wird, daß man die Gegensätzlichkeit der elektrischen Ladung als Ursache hierfür ansieht; dann müßte sich z. B. Typhusagglutinin ebenso wie an Typhusbacillen auch an Cholerabacillen binden. Die Spezifizität beruht auf einer rein chemischen Affinität und kann wohl mit dem Ausgleich elektrischer Ladungen verbunden, aber nicht von ihm verursacht sein. Allerdings nimmt Landsteiner für die Immunsubstanzen hochmolekulare, aus Aminosäuren aufgebaute, amphotere Eiweißkörper an, die nur bei einer bestimmten von der chemischen Konstitution der Stoffe abhängigen Abstimmung elektrochemisch reagieren, also sagen wir z. B. nach der Zahl und

Stärke der sauren und basischen Eigenschaften bestimmter Gruppen der reagierenden Körper; das wäre denn auch die alte Vorstellung von Fischer vom „Schloß und hierzu passenden Schlüssel". Die Lösung dieser Frage dürfte wohl mit der nach dem Wesen der Fermente zusammenhängen (Myers, Craw, Buxton & Schaffer, Teague & Buxton).

Es muß demnach, um auf die frühere Ausführung zurückzukommen, der Agglutinationsvorgang zunächst als eine Verbindung zweier Körper (Eiweißkörper) unter gleichzeitiger Zustandsänderung fixiert werden, und nicht als Zustandsänderung eines Körpers. Als homologer Vorgang wäre hierbei zunächst an die bei der Präzipitation stattfindende Bindung des Bakterienkoagulins und des Präzipitins zu einem neuen Eiweißkörper zu erinnern, der durch besondere Eigenschaften, hohe Resistenz gegen verdauende Fermente ausgezeichnet ist (Pick).

Welcher Natur sind nun die unlöslichen Eiweißverbindungen, unter welchen wir das Produkt der Agglutination zu suchen hätten?

Entgegen früheren Anschauungen sieht man jetzt in verschiedenen Eiweißverbindungen Adsorptionsvorgänge, für die Säure- und Basenverbindungen (Galeotti) wie für die Verbindungen mit Metallen (Zsigmondy, Schulz & Zsigmondy), die in einem löslichen in Mischungen von Globulinen und kolloidalem Gold erhaltenen Präparate einen schwankenden Goldgehalt gefunden haben; Galeotti hat auch für die Verbindungen der Schwermetallsalze keine konstanten Beziehungen im Sinne der Valenztheorie gefunden, er sieht sie als leichtere Bindungen der Eiweißkörper mit den Metallen nach veränderlichen Verhältnissen an. Auch für die früher auf Wasserentziehung bezogene Zustandsänderung, Fällung der Eiweißkörper durch Salze (Hofmeister) wird nach den späteren Untersuchungen, namentlich Paulis eine Adsorptionsverbindung der Salzionen mit den Eiweißkörpern angenommen, die in der Aenderung der Viskosität zum Ausdruck kommt.

Dabei können gewisse Affinitäten der einzelnen Körper erhalten bleiben, wie es der für die Absorption derselben überhaupt äußerst instruktive Versuch Moreschis erweist; indem der artspezifische Anteil Ziegeneiweiß neben dem an den Typhusbacillus gebundenen Agglutinin erhalten bleibt, reagiert er mit seinem Reaktionsprodukt im Kaninchenserum.

Ueber die bei der Einwirkung zweier Eiweißkörper bei der Ausfällung entstehenden Verbindungen ist noch wenig bekannt; in der früheren Bearbeitung wurde auf die unlöslichen Verbindungen von Albumose und Globulin von Fr. Kutscher, Nukleinsäure und Albumosen (Bang), die Protamineiweißverbindungen von Kossel und Bang & Kossel sowie die des Globulins des Barschroggens (Percaglobulin Mörner) mit dem Ovomukoid und anderen Glykoproteinen hingewiesen.

Verschieden von diesen unlöslichen Eiweißverbindungen scheinen jene Niederschläge zu sein, welche auf Zusatz gewisser Fermente entstehen, auf die Pick auch bezüglich der Aehnlichkeit der Bakterienagglutinine aufmerksam gemacht hat, die Koagulosen Kurajeffs und die Plasteïne Sawlatows, die durch die Einwirkung von Lab (Plasteïn) oder Papayotin (Koagulosen) auf Pepsin- oder Trypsinverdauungsprodukte bestimmter Eiweißkörper (Fibrin, Myosin, Kaseïn) entstehen.

Dazu würden noch gehören die Lipoid-Eiweißverbindungen, die Jecorine etc., Körper, denen zweifellos eine große biologische Dignität zukommt, da ihnen für die Löslichkeit der verschiedensten Agentien und damit für die Wirkung auf das Zellprotoplasma eine große Rolle zufällt. Als ein Beispiel für die Beeinflussung der Agglutininbildung und auch der Agglutination durch Lipoide sei an die Untersuchungen von E. P. Pick und O. Schwarz erinnert.

Eine Typhusbacillen-Lecithinemulsion hat eine vermehrte Agglutininbildung zur Folge und das Immunserum präzipitiert die Typhusbacillen-Lecithinemulsion besonders intensiv; auch das gewöhnliche Typhusimmunserum vom Pferde oder vom Kaninchen flockt die Lecithinbacillen stärker als native, was seinen Grund wohl darin haben dürfte, daß die Adsorptionsverbindung Typhusbacillen-Lecithin früher und leichter mit dem Immunserum ausflockt als die Typhusbacillen allein. Das Immunserum der mit Organlipoiden hergestellten Typhusbacillenemulsion verhält sich prinzipiell analog, nur sind die Serum- und die Leukocytenlipoide weitaus wirksamer, außerdem besitzen aber die Sera einen spezifischen Charakter, indem immer die Organlipoid-Typhusbacillenemulsion vom homologen Serum am stärksten geflockt wird.

Das Entstehen einer wenig oder unlöslichen Eiweißverbindung aus der Adsorption des Agglutinins in der agglutinablen Substanz würde das verschiedene Verhalten der Agglutininbakterien gegenüber den Neutralsalzen und dem elektrischen Strome erklären, ferner, daß sie durch Gelatine (E. Weil), Gummi arab., Serum etc. im Gegensatz zu Kolloiden und insbesondere zu nativen Bakterien nicht gehemmt werden. Nach der Größe der Teilchen urteilend, hat man die Bakterienaufschwemmung als „Suspension" betrachtet; jüngste Untersuchungen von Pribram[2] haben jedoch Anhaltspunkte dafür gegeben, daß ihr jedenfalls in gewissen Reaktionen der Charakter einer Emulsion zukommt, die aber leicht in den Suspensionszustand übergeführt werden kann, z. B. durch Zusatz agglutinierenden Serums.

Der Unterschied zwischen dem emulsoiden (hydrophilen) und dem suspensoiden Charakter von Kolloiden liegt in der Beziehung ihrer kolloiden Phase zum Dispersionsmittel (Wasser); die Emulsionskolloide stehen den echten Lösungen, die Suspensionskolloide den echten Suspensionen (z. B. Kohleteilchen) näher; wichtig ist die Veränderung der inneren Reibung und Oberflächenspannung durch die Emulsoide im Gegensatz zu den indifferenteren Suspensoiden und ganz besonders die außerordentliche Empfindlichkeit der Suspensionskolloide gegenüber Elektrolyten, von denen sie irreversibel gefällt werden, im Gegensatz zu den wenig elektrolytempfindlichen Emulsoiden. Darauf beruht eine von Mines (Cambridge) angegebene Methode zur Differenzierung, indem die stark elektropositiven Kationen der dreiwertigen Salze der seltenen Erden (Ce, La, Y) sowohl Emulsoide als Suspensoide ausflocken, während die ebenfalls dreiwertigen Salze mit Kationen höherer Ordnung (komplexe Salze wie $Co(NH_3)_6Cl_3$ nur Suspensoide, nicht Emulsoide ausflocken. Native Bakterien (Typhus, Staphylokokken) verhalten sich wie Emulsoide, indem sie durch die einfachen dreiwertigen Salze intensiv agglutiniert werden, durch das komplexe Salz aber gar nicht beeinflußt werden; setzt man aber im salzfreien Medium (tagelang dialysierte Bakterien, mit destilliertem Wasser*) verdünntes Serum) zu agglutininbeladenen Bakterien derartige Verdünnungen des komplexen Salzes zu, die durch ihren Salzgehalt allein noch nicht imstande wären, die Agglutination herbeizuführen (Vergleich mit äquimolekularer Kochsalzlösung), so erfolgt Ausflockung. Es sind also die Bakterien durch den Zusatz des agglutinierenden Serums aus dem Emulsions- in den Suspensionszustand übergeführt worden.

Der auf diese Weise konstatierte Emulsionscharakter der Bakterienaufschwemmung steht in Uebereinstimmung mit der schon angegebenen Analogie zu den Bakterien-Eiweißlösungen, welche zu den

*) Das Serum wird zunächst mit 0,4-proz. Kochsalzlösung 10-fach, dann mit Aq. dest. noch 100-fach verdünnt (1:1000).

h y d r o p h i l e n oder l y o p h i l e n Kolloiden gehören, die besser als Emulsoide bezeichnet werden (Wo. Ostwald). Der Emulsionscharakter besagt, daß eine innige Beziehung zwischen Bakterien und der Flüssigkeit besteht, der mit der leichten Diffusion und Auslaugung der Bakterienkörpersubstanzen (die wirksamen ClNa-Extrakte verschiedener funktioneller, auch agglutinogener Bedeutung, darunter das Koagulin K) gut übereinstimmt. Die Eigenschaft der Emulsoide, durch Salze erst in viel größeren Konzentrationen gefällt zu werden, besitzt, wie mehrmals hervorgehoben, auch die Bakterienaufschwemmung. Sie beruht darauf, daß wegen der übereinstimmenden Formart beider Phasen, ihrer gegenseitigen Löslichkeit der zugesetzte Elektrolyt in beiden Phasen löst, und demzufolge die elektrischen Eigenschaften der Phasen sich gleichsinnig verändern (Ostwald), wie überhaupt die Stabilität der lyophilen Kolloide von den Ladungsverhältnissen unabhängig ist, wie dies von Pauli an durch Dialyse elektrisch „neutralen" Eiweißlösungen erwiesen ist. Für die Säureagglutination der Bakterien hat Beniasch nachgewiesen, daß keine Entladung der elektronegativen Bakterien, kein Ladungsaussgleich stattfindet. Die wesentliche Eigentümlichkeit der Koagulationsvorgänge bei den Emulsoiden besteht in einer intensiven Oberflächenverkleinerung der dispersen Phase, wobei derselben ein verschieden großer Teil des in in ihr enthaltenen Dispersionsmittels entzogen wird. Billitzer legt bei den Agglutininbakterien ein besonderes Gewicht auf ihre relative Größe, welche für die Ausflockbarkeit besonders günstige Bedingungen (schon durch kleine Elektrolytmengen) schafft.

Aenderung der Oberflächenspannung wurde wiederholt für den Agglutinationsvorgang herangezogen. Außer Duclaux hat Myers, wie erwähnt, für die Agglutination der roten Blutkörperchen nach einem chemischen Vorgange in der I. Phase, für die II. Phase eine infolge der unlöslichen Verbindung im roten Blutkörperchen veränderte Oberflächenspannung angenommen, derzufolge die roten Blutkörperchen sich aggregieren wie Teilchen in einer sie nicht benetzenden Flüssigkeit. Craw sieht auch in der II. Phase den Effekt von Absorption und Oberflächenspannung. Brunton hat auf einen entsprechenden Demonstrationsversuch aufmerksam gemacht (Physiologen-Kongreß in London 1899 und intern. med. Kongr. Paris, 1900).

Mit harter Seife bestrichene Zündhölzchen schwimmen in einem mit Lackmusblau gefärbten Wasser ohne Anordnung; bei Säuerung treten sie in der roten Flüssigkeit zu Haufen zusammen. Wird das Wasser wieder alkalisch gemacht, so lassen sich die Hölzchen wieder verteilen und bleiben so; Korkscheiben mit Schrotkorn können in demselben Versuche die Agglutination roter Blutkörperchen versinnlichen.

Mit der flüssigen Zusammensetzung der „lyophilen" Kolloide hängen auch Vorgänge der Q u e l l u n g zusammen, welche für größere Konzentrationen dieser Systeme charakteristisch sind; der Demonstrationsversuch von E. P. Pick & Obermayer mit E d e s t i n - k r i s t a l l e n steht damit im Zusammenhang.

Trägt man Edestinkristalle in Wasser ein, so bleiben sie unverändert, auch bei Zusatz eines Edestin-Immunserums; fügt man aber einen Tropfen Lauge zu, wodurch Edestin löslich wird, so tritt A g g l u t i n a t i o n der K r i s t a l l e ein. Dadurch daß das in Wasser unlösliche Edestin bei schwach alkalischer Reaktion löslich wird, kommt es zur Reaktion zwischen demselben und seinem Antikörper, wobei nun die Kristalle verklumpen.

Ich möchte an dieser Stelle auch auf die eigentümliche helle Zone verweisen, welche in den mit Silber gefärbten Präparaten agglutinierter Typhusbacillen um die Haufen zu sehen ist; nach ihrer Ausdehnung könnte dieselbe den Löwitschen Niederschlägen entsprechen, um so mehr als man auch um einzelne Bacillen eine solche sehen kann; es erscheint aber auffallend, daß ein Eiweißniederschlag nicht durch das Silber gefärbt werden sollte. Es drängt sich daher die auf den ersten Blick entwickelte Vorstellung auf, daß die helle Zone einer Verdünnung am Substanzgehalt entspräche, die bei der Retraktion des Bakteriengerinnsels entstanden wäre.

Es scheint somit die mit der Adsorption des Agglutinins eingetretene Veränderung der Oberflächenspannung der letzte Mechanismus zu sein, durch den die Ausflockung zustandekommt.

Aus der kurzen Skizze geht hervor, daß die Agglutination (und Präzipitation) eine echte Kolloidreaktion ist, für deren Spezifizität aber wohl die chemische Konstitution der miteinander reagierenden Kolloide verantwortlich zu machen ist. Diese bedingt die Bildung der komplexen Verbindung, die unter Aenderung der Lösungsverhältnisse und durch Aenderung der Oberflächenspannung die Ausflockung bedingen. Der bei der einfachen Betrachtung des Phänomens von Gruber & Durham gemachte Ausspruch: „die Bakterien werden durch die Agglutinine ausgefällt“, kommt dem Wesen des Vorganges näher, als die von den Autoren supponierte Erklärung desselben, welche dem Phänomen den Namen gegeben hat.

X. Agglutination durch chemische Substanzen.
(Säureagglutination.)

Schon in der ersten Zeit nach der Entdeckung der Agglutination fahndete man nach Substanzen, welche dieselbe Erscheinung in Bakterienkulturen hervorzubringen imstande sind, teils um das Wesen des Phänomens ergründen zu können, teils auch um auf diese Weise die wirksame Substanz des Typhusserums zu eruieren, oder endlich um chemische Substanzen zu finden, die eine spezifische Wirkung auf gewisse Mikroben hätten und dadurch zur Diagnose verwendbar wären. Gefördert wurde der Gedanke durch die von Bordet, Widal & Sicard, Durham erkannte Tatsache, daß auch durch Erwärmen auf 58—60° C abgetötete Typhusbacillen agglutiniert werden.

So glaubte Blachstein im Chrysoidin eine Substanz gefunden zu haben, welche nur echte Choleravibrionen agglutiniere, was Engels nicht bestätigte. Malvoz, der sich eingehend mit der Frage beschäftigte, fand, daß zahlreiche Substanzen, welche Koagulation erzeugen, auch agglutinieren; an der Spitze der Reihe stehen Formalin, Sublimat; während Karbolsäure, Chloroform, Milchsäure oder die schweren Säuren nicht agglutinieren sollen, sei Salicylsäure wirksam. Malvoz glaubte der Agglutination von Typhusbacillen durch Formalin einen differentialdiagnostischen Wert beimessen zu können, da Colibacillen nicht beeinflußt werden, was in gewisser Beziehung auch Lambotte & Bossaert annehmen, nach denen auch Paratyphusbacillen nicht agglutiniert werden; doch fanden Beco, Remy, Widal & Nobécourt, daß eine solche Spezifizität durchaus nicht bestehe. Für Choleravibrionen konnte Bossaert keine chemische Substanz finden, die, wie das Choleraserum, dieselben spezifisch agglutiniere. Malvoz glaubte aus der starken Verdünnung, in welcher Safranin und namentlich Vesuvin Typhusbacillen agglutinieren, nicht nur eine Analogie zum Typhusserum zu sehen, sondern auch in Verbindung mit der häufig vorkommenden Diazoreaktion bei Typhus und dem Vesuvin als einem Antikörper einen Anhaltspunkt dafür gewonnen zu haben, daß ein derartiger Körper die agglutinierende Substanz des Blutserums bilde.

SABRAZÈS & BRENQUES fanden als agglutinierende Substanzen: Chininsalze, Antipyrin, schwefelsaures Atropin, salicyl-, kakodyl- und doppeltkohlensaures Natron und zahlreiche organische Stoffe, Organsäfte wie Schilddrüsen- und Lungensaft; DEUTSCH fand in letzterem ein ständiges, aber nicht spezifisches Agglutinin. TRUMPP fand Agglutination der Choleravibrionen durch 10-proz. Gummilösung, 10-proz. Eibischdekokt, 2-proz. Stärkekleister, auch noch durch 10-proz. Verdünnung dieser Lösungen, nach KÖHLER ist Taurocholsäure (10-proz.) auf Typhusbacillen wirksam (Agglutinationskraft des Serums bei Ikterus vgl. S. 540), durchwegs Substanzen kolloidaler Natur.

Der agglutinierenden, fällenden Wirkung von Salzen, Alkalien, Säuren, wie eine solche von den Untersuchungen EISENBERG & VOLKS, namentlich aber durch die systematischen Untersuchungen von NEISSER & FRIEDEMANN, BECHHOLD, FRIEDEMANN, PORGES u. a. bekannt geworden sind, wurde bereits Erwähnung getan; sie stellen fast einen vollkommenen Parallelismus zwischen der Agglutination von Bakterien und der Fällung kolloidaler Suspensionen durch Elektrolyte und auch manche Nichtelektrolyte fest, wobei ein wesentlicher Unterschied nur in der Wirkung der Salze und der alkalischen Erden besteht. Ein besonderes Studium erfuhr in der letzten Zeit die Säureagglutination der Bakterien, besonders der Typhusbacillen.

Schon NEISSER & FRIEDEMANN beobachteten die agglutinierende Wirkung minimaler Dosen einiger Säuren auf Typhusbacillen. Durch die Untersuchungen MICHAELIS über die Eiweißkoagulation gewann die Säureagglutination ein besonderes Interesse. Er fand, daß das Optimum für die Koagulation einer Lösung von denaturiertem Eiweiß, wie überhaupt von Suspensionskolloiden zusammenfalle mit dem isoelektrischen Punkte, der bei einer schwach sauren Reaktion der Eiweißlösung eintritt. Bei Uebertragung der Versuche auf Bakterien ergab sich, daß dieselben durch einen gewissen Grad von Säure, den man rationell durch die Konzentration der $H^{\cdot}$-Ionen mißt, agglutiniert werden; das Optimum ist für verschiedene Bakterien verschieden, für Typhusbacillen sehr ausgesprochen, so daß die Säureagglutination als ein Hilfsmittel für die Identifizierung von Bakterien herangezogen werden kann.

BENIASCH hat die Säureagglutination jüngst eingehend für verschiedene Bakterien verfolgt; er benutzte Milch-, Essig-, Lävulinsäure und ihre Salze; dabei zeigte sich, daß weder die Säure als solche noch das Anion der Säure eine Bedeutung haben und die Agglutination ausschließlich von den Wasserstoffionen abhängt; sie tritt konform MICHAELIS nur in den Grenzen bestimmter $H^{\cdot}$-Ionenkonzentrationen $[H^{\cdot}]$ ein, die bei verschiedenen Bakterien verschieden ist, und bei einer bestimmten $[H^{\cdot}]$ ihr Optimum erreicht. Für Typhusbacillen liegt das Optimum in einer Konzentration, die einer solchen von 4×10^{-5} gleich ist. Die Angehörigen der Enteritisgruppe verhalten sich der Säureagglutination gegenüber analog wie bei der spezifischen Agglutination; es lassen sich 2 Gruppen, die des Paratyphus B und des Gärtnerschen Bacillus unterscheiden, die durch eine andere Agglutinationszone und ein anderes $[H^{\cdot}]$ Optimum ausgezeichnet sind; dagegen wird Paratyphus A in den Grenzen derselben $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration wie B agglutiniert, ebenso läßt die an sich nicht hohe Agglutination der Diphtheriebacillen keinen Unterschied gegenüber Pseudodiphtheriebacillen erkennen. Die Agglutination der sehr empfindlichen Staphylokokken und der gegen Säure stark resistenten Streptokokken zeigt auch das Optimum bei derselben $[H^{\cdot}]$, von dem sich jedoch das der

schwach agglutinierbaren Pneumokokken deutlich unterscheidet. Für Bac. pyocyan. fand sich eine bestimmte Konzentration der H-Ionen wirksam, doch ist die Agglutination schwach und fehlt bei einzelnen Stämmen. Für die hochempfindlichen Choleravibrionen konnte keine bestimmte Größe der H-Ionenkonzentration gefunden werden, die eine Differenzierung von anderen Vibrionen zuließe. Der Bac. Friedländer zeigt auch gegen Säuren dieselbe hohe Widerstandsfähigkeit wie gegen homologes Serum, er wird nicht agglutiniert. Eine andere interessante Uebereinstimmung mit der spezifischen Serumagglutination ergab sich noch dadurch, daß nach Beniasch allem Anschein nach, wenigstens beim Typhusbacillus im Vorgang der Säureagglutination die agglutinable Substanz des Bakteriums identisch ist mit derjenigen, die bei der spezifischen Agglutination reagiert, was mit der an anderer Stelle besprochenen Modifikation der Agglutination der mit Säure behandelten Bakterien übereinstimmt. Salze hemmen die Säureagglutination ebenfalls. Beniasch mißt der Säureagglutination auch eine praktische Bedeutung zu und meint, daß die Reihe der morphologischen und biologischen Merkmale in Hinkunft noch durch den Wert der optimalen Agglutinationsazidität zu ergänzen wäre. Der wichtigen Resultate der Kataphorese der Bakteriensuspensionen in saurer Lösung wurde bereits Erwähnung getan; gleichzeitig auch, daß der Vorgang als Koagulation zu betrachten ist. Nach Rost ist die Methode für die Diagnose der Typhusbacillen praktisch verwendbar und stellt eine Bereicherung der Methode dar.

R. Kraus & W. Seng hatten gezeigt, daß die künstliche Agglutination auf der Bildung von Niederschlägen und Gerinnungen beruht, namentlich von Eiweißkörpern, und nahmen an, daß die Bakterien in diese Niederschläge eingeschlossen werden. Suspensionen von Tusche in Wasser, Ultramarin oder Zinnober in Bouillon, die lebhafteste Molekularbewegung zeigen, werden durch Zusatz von Alkohol zur Tusche, von Chrysoidin, Salpetersäure, Natronlauge zur Zinnoberaufschwemmung ausgeflockt, die Molekularbewegung sistiert und rasch kommen Haufen aus den suspendierenden Körperchen zur Entwickelung. Auch die Molekularbewegung der Bakteriensporen hört bei der Agglutination auf (Halban). Schwemmt man Zinnober statt in Bouillon in Kochsalzlösung auf, so entstehen bei Zusatz von Alkohol, Chrysoidin usw. keine Niederschläge, weil diese Substanzen in der NaCl-Lösung keine Fällung hervorrufen; Chrysoidin, Salpetersäure, Natronlauge erzeugen für sich Niederschläge in der Bouillon, ob nun Bakterien darin suspendiert sind oder nicht; in ersterem Falle werden dieselben mitgerissen. Tusche wird auch aus der wässerigen Aufschwemmung mit Alkohol niedergeschlagen, wohl infolge ihres Gehaltes an Gummi. Außer Säuren, Alkalien und Salzen erzeugt auch Safranin in der Bouillon Niederschläge. Kraus & Seng haben, wie erwähnt, aus diesen und ähnlichen Versuchen geschlossen, daß die künstliche Agglutination durch das Entstehen von Niederschlägen bedingt sei. So fand auch Hinterberger bei Agglutination von Typhusbacillen durch Vesuvin zahlreich abgerissene, kreisförmige Stücke darstellende Geißeln, während bei der Serumagglutination die Geißeln gar keine Abweichung zeigen (vgl. dieses Handbuch, 1. Aufl., Bd. 4); bei Safranin erscheinen sie in kürzeren, steileren Wellen, mehr an den Bakterienkörper herangezogen.

Landsteiner & v. Jagič fanden anorganische Kolloide (Kieselsäuregallerte) auf rote Blutkörperchen wirksam, Siegfried kieselsaures Natrium bei 0,1 Proz. Typhusbacillen werden jedoch durch die Kieselsäure selbst in starken Konzentrationen nicht agglutiniert.

Aus der großen Verschiedenheit der Körper, die das Bild der Agglutination hervorrufen können, erscheint es wahrscheinlich, daß der Mechanismus dieser künstlichen Agglutination ein verschiedener ist: Niederschlagsbildungen in der Flüssigkeit, Veränderungen der

umgebenden Flüssigkeit hinsichtlich der Oberflächenspannung wie durch die Einwirkung von Salzen, kolloidaler Stoffe und dadurch Störung der Molekularattraktion usw., denn die Niederschlagsbildung hängt mit Oberflächenspannung auch dann zusammen, wenn der feste Körper nicht die Niederschlagsquelle ist.

Literatur.

[1] Aaser, P., Ueber die makroskopische Agglutinationsprobe bei Typhoidfieber. Berl. klin. Wochenschr., **1905**.

[2] — Ueber die Schutzimpfung des Menschen gegen Cholera. Berl. klinische Wochenschr., **1910**, Nr. 34.

[1] Achard, Soc. méd. des hôpit., 9 Octobre **1896**.

[2] — Zit. nach Bensaude, p. 267.

[3] — Zit. nach Widal, ebenda, p. 268.

[1] Achard & Bensaude, zit. nach Bensaude, Thèse, Paris **1897**.

[2] — — Sur l'agglutination des divers échantillons du bacille d'Eberth et des bacilles paratyphiques. Compt. rend. soc. Biol., 21. XI. **1896**, p. 940.

[3] — — Fièvre typhoide chez une nourrice. Bull. de la soc. méd. des hôp., Paris, 31. VII. **1896**.

[4] — — Sur la présence de la propriété agglutinante dans le plasma sanguin et dans les divers liquides de l'organisme. Compt. rend. Acad. scienc., 28. IX. **1896**.

[5] — — Sérodiagnostic du Choléra asiatique chez l'homme. Presse méd., **1896**, p. 504.

[6] — — Sérodiagnostic du Choléra. Soc. méd. des hôpit., 23 avril **1897**.

Achard & Lannelongue, Sur le passage de la propriété agglutinante à travers la placenta. Compt. rend. de la soc. de Biol., **1897**, p. 255.

Achard, Loeper & Grenet, Séroreaction dans l'infection pyocyanique chez l'homme. Compt. rend. soc. Biol., T. 54, 1274, 15. Nov. **1902**.

Adler, Centralbl. für innere Med., Bd. 25, 166, **1904**.

Affanasieff, zit. nach Baumgartens Jahresber., Bd. 16, 47, **1900**.

Albrecht & Ghon, Wien. klin. Wochenschr., **1901**.

Aldrige, Lancet, **1898**, Vol. 1, p. 1394.

Alexis, Werner & Ismailova, S., Sur la nature chimique de la substance agglutinante du sérum typhique. Compt. rend. de la soc. de Biol., 13. VI. **1903**.

Almagià Marco, Einfluß des Nährbodens auf die Morphologie der Kolonien und auf die Agglutinabilität von Bakterien. Arch. f. Hyg., Bd. 59, **1906**.

Altmann & Rauth, Erzeugung serologisch nachweisbarer Variationen beim Bac. coli. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 7, 629, **1910**.

Altobelli & Memmo, Ueber die Erscheinung der Agglutination. Centralbl. f. Bakt., Bd. 31.

Amako & Kojima, Weitere Studien über verschiedene Typen von Dysenteriebacillen. I. Arbeit. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 60, **1908**.

Amato, de, Untersuchungen nach der Methode der Absorption. Centralbl. f. Bakt., Bd. 53, 337, **1910**.

Amberger, zit. nach M. Neisser, Staphylokokken. Dieses Handb., 2. Aufl., Bd. 4, 403, **1912**.

Amiradžibi, S., Zur Frage der Serodiagnose von Bac. coli etc. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, 338, **1910**.

Amiradžibi & Kaczynski, Ueber die Beziehungen der Bakterienpräzipitine zu den Agglutininen. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, 694, **1910**.

Anders & Macfarland, Clinical and scientific contribution upon the value of the Widal reaction. Phil. med. journ., **1899**.

Andrejew, Paul, Ueber das Verhalten von Normal- und Immunagglutininen bei Absorption und Filtration und beim Erhitzen mit besonderer Berücksichtigung der Rotzagglutinine. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amte, Bd. 33.

Arloing, F., Existe-t-il un rapport entre l'action chimiotaxique de certains sérums se rapportants à la tuberculose et leur pouvoir agglutinant sur le bacille de Koch? Compt. rend. de la soc. de Biol., 13 déc. **1902**, p. 1428.

[1] Arloing, S., Du diagnostic de la tuberculose par la séroagglut. Congr. int. Paris, **1900**, août.

[2] Arloing, S., Agglutination du bacille de la tuberculose vraie. Congr. de méd. int., Montpellier **1898**.
[3] — Sur l'obtention de cultures et d'émulsions homogènes du bacille de la tuberculose humaine en milieu liquide et sur une variété mobile de ce bacille. Compt. rend. acad. sc., T. 126, p. 1319—1321, **1898**.
[1] Arloing, S., & Courmont, P., De l'agglutination du bacille de Koch; agglutination au sérodiagnostic de la tuberculose. Zeitschr. f. Tuberkulose, Bd. 1, H. 1—2, **1900**.
[2] — — Ueber den Wert der Serumreaktion für die frühzeitige Diagnose der Tuberkulose. Deutsche med. Wochenschr., **1900**, S. 766.
[3] — — Les sérums agglutinant le Bacille d'Eberth ont-ils la même action sur le bac. de Koch? Journ. de physiol. et path. gén., **1903**.
[4] — — Etude sur la recherche et la valeur clinique de l'agglutination du bacille de Koch par le sérum sanguin des l'homme. p. 516.
[5] — — De l'obtention de cultures du bacille de Koch les plus propices, à l'étude du phenomène de l'agglutination par le sérum sanguin des tuberculeux. Compt. rend. acad. sc., T. 127, 312, 8. août, **1898**.
Aronson, Weitere Untersuchungen über Streptokokken. Deutsche med. Wochenschrift, 9. VI. **1903**.
[1] Arrhenius, Sv., Die Anwendung der phys. Chemie auf die Serumtherapie. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amte, Bd. 20, 559.
[2] — Zur physikal. Chemie der Agglutination. Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 46, 415.
[3] — Die Anwendung der physikal. Chemie auf serumtherapeutische Fragen. Festschrift für Boltzmann, Leipzig **1904**, S. 860.
[4] — XI. Versammlung der deutschen Bunsen-Gesellschaft. Zeitschr. f. Elektrochem., **1904**.
Arzt & Boese, Ueber Paratyphusmeningitis im Säuglingsalter. Wien. klin. Wochenschr., **1908**, Nr. 7.
Asakawa, Ueber das Wesen der Agglutination etc. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 45, S. 93.
Ast, Praktische Erfahrungen mit der Typhusreaktion nach Mandelbaum. Münch. med. Wochenschr., **1910**, S. 2634.
Auchè & Campagna, Le bacille dysentérique type Flexner dans la dysentérie des enfants. Compt. rend. soc. Biol., T. 59.
Aujeszki & Wenhardt, Ueber die Agglutination der Pestbacillen. Berl. klin. Wochenschr., **1902**, Nr. 32.
Aumann, Ueber Befunde von Bakterien der Paratyphusgruppe mit besonderer Berücksichtigung der Ubiquitätsfrage. Centralbl. f. Bakt., Bd. 57, **1911**.
Babes & Feodorasco, Les associations des microbes du groupe coli etc. Compt. rend. soc. Biol., T. 66, 30 Avril **1909**. — Sur deux microbes intermediaires entre le paratyphique et le bacille typhique. Compt. rend. soc. Biol., T. 66, **1909**.
Babucke, Apparat zur Blutentnahme bei Typhuskranken zur Anstellung der Widalschen Reaktion. Centralbl. f. Bakt., Bd. 23, 1092.
Bachmann, Beitrag zur Kenntnis des malignen Oedems. Centralbl. f. Bakt., Bd. 37, 353.
Bächer & Hachla, Zur Kritik der Prüfungsmethoden des Meningokokkenserums. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 5, 404, **1909**.
Bächer, St., & Menschikoff, V. K., Ueber die ätiologische Bedeutung des Bordetschen Keuchhustenbacillus und den Versuch einer spezifischen Therapie der Pertussis. Centralbl. f. Bakt., Bd. 61, Heft 3, **1911**.
Baermann, G., & Eckerşdorff, O., Ueber Paratyphus A. Aus d. Zentral-Hospital zu Petoemboekan, Sumatras Ostküste. Berl. klin. Wochenschr., **1909**, S. 1802.
[1] Bail, O., Untersuchungen über die Agglutination von Typhusbakterien. Prag. med. Wochenschr., **1901**, Nr. 7 und 12.
[2] — Versuche über Typhusagglutinine und Präzipitine. Arch. f. Hyg., Bd. 42, S. 307.
[3] — Ueber die Agglutinationswirkung normalen Rinderserums. Centralbl. f. Bakt., Bd. 51, 170, **1909**.
[4] — Das Problem der bakteriellen Infektion. **1911**.
Bail & Tsuda, Versuche über bakteriolytische Immunkörper mit besonderer Berücksichtigung normalen Rinderserums. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 1. Abt., Orig., **1909**, S. 546.

BALLNER, F., & REIBMAYR, H., Ueber die Verwendbarkeit der Komplementablenkungsmethode für die Differenzierung von Mikroorganismen, nebst Bemerkungen über den Zusammenhang dieses mit der Agglutination bzw. Präzipitationsreaktion. Arch. f. Hyg., Bd. 64, **1909**.

BALLNER & v. SAGASSER, Ueber die Bildung von homologem und heterologem Agglutinin im Tierkörper. Arch. f. Hyg., Bd. 51.

BANCEL, De la non-agglutinabilité primitive des quelques bacilles d'Eberth. Journ. de phys. et path. gén., **1902**, p. 519.

BANG, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 27.

BANG & KOSSEL, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 27.

BARONI & JONESCO-MIHAÏESTI, Sur la destruction etc. Compt. rend. soc. Biol., T. 68, **1910**.

BASSENGE, Zur immunisierenden Wirkung von bakteriellen Lecithinauszügen. Deutsche med. Wochenschr., **1909**, S. 108.

BASSET, P. W., Agglutination bei Maltafieber. Journ. of trop. med., **1906**, Nr. 10. Ref. Deutsche med. Wochenschr., **1906**, Nr. 24.

BASSETT-SMITH, Our present knowledge of the etiology of mediterranean fever, with special reference to the royal Navy. Journ. of the royal san. inst., **1906**, p. 375.

BAUDI, L'arricchimento specifico e l'agglutinazione al stato nascente etc. Bull. assoc. fra cultor. med. et nat., Vol. 3, Nr. 1—2, **1911**. Ref. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 4, 591.

BECHHOLD, Die Ausflockung von Suspensionen bzw. Kolloiden und die Bakterienagglutination. Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 48, 384.

BECHT, FRANK, C., & GREER, JAMES, A study of the concentration of the antibodies. Journ. of infect. diseases, Vol. 7, 127, **1910**.

[1] BECK, M., & RABINOWITSCH, Weitere Untersuchungen über den Wert der Arloing-Courmontschen Serumreaktion bei Tuberkulose, speziell bei Rindertuberkulose. Deutsche med. Wochenschr., **1901**, Nr. 10, S. 145.

[2] — — Ueber den Wert der Courmontschen Serumreaktion für die Frühdiagnose der Tuberkulose. Deutsche med. Wochenschr., **1900**, Nr. 25.

BECKER & RUHLAND, Typhoid agglutinin reaction in a case of epidemic cerebrosp. meningitis. Journ. Americ. med. ass., Vol. 52, p. 13, **1909**.

[1] BECO, Recherches sur le sérodiagnostic de la fièvre typhoide. Bull. acad. roy. méd. Belgique, **1896**, Nr. 11.

[2] — Recherches sur la valeur de l'agglutination par la formaline etc. Bull. acad. roy. méd. Belgique, **1898**, Nr. 4; Centralbl. f. Bakt., Bd. 26, 136, **1899**.

BEHRING, Zur antitoxischen Tetanustherapie. Deutsche med. Wochenschr., **1903**.

BEISER, Zur Agglutination der Tetanusbacillen durch den Harn Typhuskranker.

BEITZKE, Verhandl. der deutschen pathol. Gesellsch., Bd. 2, 154, **1904**.

BELJAEFF, Ueber einige Eigenschaften agglutinierender sowie anderweitiger spezifischer Serumarten. Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, 293, **1903**.

BELONOWSKI, Zur Frage der von Dr. Mandelbaum angebotenen Vereinfachung der serodiagnostischen Typhusreaktion. Münch. med. Wochenschr., **1910**, S. 749.

BENDIX, E., Zur Serodiagnose der Tuberkulose. Deutsche med. Wochenschr., **1900**, Nr. 14.

BENIASCH, Die Säureagglutination der Bakterien. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 12, 268, **1912**.

BENSAUDE, R., Le phénomène de l'agglut. des microbes et son applic. à la pathologie. (Le sérodiagnostic), Paris **1897**.

BERTARELLI, E., Die Kapselbacillen, insbesondere ihre Systematik etc. Centralbl. f. Bakt., **1906**, S. 338.

BESANÇON & GRIFFON, Pouvoir agglutinatif du sér. dans les infections expérimentales et mémoires à pneumocoques. Presse méd., **1897**, p. 25.

BESANÇON & SARBONNES, Recherches sur les anticorps tuberculeux. Compt. rend. soc. Biol., T. 67, 548, **1909**.

BESREDKA, Etude de l'immunité dans l'infection typhique expérimentale. Ann. Pasteur, T. 15, **1901**.

BEYER, W., Ueber Wrights Methode der mikroskopischen Agglutination in Kapillarröhrchen. Med. Klinik, **1909**, S. 216.

BIBERSTEIN, Beiträge zur Serumdiagnostik des Abdominaltyphus. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 27, H. 3, **1898**.

BIEROTTE, Die Entwickelung und die Tätigkeit des Untersuchungsamtes für ansteckende Krankheiten — Halle. Hyg. Rundschau, Bd. 21, 297, **1911**.

Billitzer, Jean, Theorie der Kolloide II. Sitzungsber. d. Kais. Akademie d. Wissensch. in Wien, Abt. IIa, Bd. 113, 1159.
Biltz, W., Einige Versuche zur Deutung des Agglutinationsvorganges. Zeitschr. f. physikal. Chemie, Bd. 48, 615, **1904**.
Biltz, Ueber die gegenseitige Beeinflussung kolloidal gelöster Stoffe. Ber. d. d. deutsch. chem. Gesellsch., **1904**.
Bird & Lamb, Mediterranean or Malta fever. Lancet, **1899**, 2. Sept.
Bisserie, Sérum agglutinant des lévures. Compt. rend. soc. Biol., 23. II. **1901**.
Blachstein, Verhalten des Chrysoidins gegen Choleravibrionen. Münch. med. Wochenschr., **1896**, S. 1067.
Blasi de Dante, Intorno alla presenza di sostanze antiagglutinante nei sieri normali. Ann. d'Igiena sper., Vol. 13, 600, **1903**; zit. nach Münch. med. Wochenschr., **1905**, Nr. 24, S. 1152.
Blasius & Kathe, Bericht über die Tätigkeit der Untersuchungsanstalt etc. Halle 1908. Hyg. Rundschau, Bd. 19, 521, **1909**.
Bloch, Zur Diagnose der Sporotrichose. Therap. Monatsh., **1910**, S. 24.
Blum, Zur Serodiagnostik des Typhus abdominalis mittels des Fickerschen Diagnostikums. Münch. med. Wochenschr., **1904**, Nr. 41, S. 1829.
Blum, F., Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 22, 127.
Blumenthal, Franz, Ueber die Bedeutung der Gruber-Widalschen Reaktion bei Erkrankungen der Leber und der Gallenwege. Med. Klin., **1905**, Nr. 48.
Blumenthal, Ueber das Vorkommen von Typhus- und Paratyphusbacillen bei Erkrankungen der Gallenwege. Münch. med. Wochenschr., **1904**.
Bock, Untersuchungen über Bakterien aus der Paratyphusgruppe. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 24, **1906**.
Boddaert, Ueber die Umwandlung agglutininbindender Eigenschaften des Paratyphusbacillus B. Deutsche med. Wochenschr., **1910**, Nr. 22, S. 1026.
Bofinger & Dieterlen, Beiträge über Kenntnis des Fleischvergiftungserregers. Deutsche med. Wochenschr., **1910**, Nr. 35.
Bolton, The significance of the typhoid serum reaction in the offspring of patients suffering from enteric fever. Journ. of pathol., Vol. 7, 137, **1901**.
Bondi, Ueber das Vorkommen von Bac. paratyphi A bei einem Falle von chronischer Enteritis. Wien. klin. Wochenschr., **1909**, Nr. 15.
Bonhoff, Ueber die Identität des Löfflerschen Mäusetyphusbacillus mit dem Paratyphus B. Arch. f. Hyg., **1904**.
Bonome, Ueber die Schwankungen des Agglutiningehaltes etc. während der Rotzinfektion. Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, 601, 732, **1905**.
[1] Bordet, Sur l'action des sérums préventifs. Ann. Pasteur, **1896**.
[2] — Méchanisme de l'agglutination. Ebenda, **1899**.
[3] — Contribution à l'étude du sérum antistreptococcique. Ebenda, **1897**.
[4] — Ebenda, T. 3, 208, **1896**.
[5] — Sur le mode d'action des sérums préventifs. Ebenda, **1896**, p. 211.
Bordet & Sleeswijk, Sérodiagnostic et variabilité des microbes suivant le milieu de culture. Ann. Pasteur, T. 24, **1910**.
Bormans, Della azione agglutinativa dell' urina dei tifosi etc. Riforma med., Vol. 4, **1896**; Centralbl. f. Bakt., Bd. 23, **1898**.
Bossart, Etude sur l'agglutination comparée du vibrion cholérique et des microbes voisins. Ann. Pasteur, T. 12, **1898**.
Bötticher, Ueber die Entwicklung und Tätigkeit des Untersuchungsamtes in Gießen. Hyg. Rundschau, **1910**, S. 634.
Bourges & Méry, Note sur le sérodiagnostic de la morve. Arch. de méd. expér., T. 12, 182, **1900**.
Bowman, A series of cases of trop. infant dysent. Bull. de l'inst. Pasteur, **1908**.
Boycott, A. E., & Douglas, C. G., Further observations on transfusion, **1910**.
Brancati, La serodiagnosi della febbre tifoide. Gazz. degli opsedali, 12. XI. **1899**.
Braude & Carlson, The influence of various Lymphagogues etc. Amer. journ. of phys., Vol. 21, 221, **1908**.
Braun, Hugo, Ueber die Agglutination von Choleravibrionen durch normales Rinderserum. Arch. f. Hyg., Bd. 68, 116, **1909**.
[1] Bredig, Die anorganischen Fermente. Inaug.-Diss. Leipzig, **1901**.
[2] — Zeitschr. f. Elektrochemie, Bd. 13, **1904**.
Bredow, Ueber die agglutinierende Wirkung des Serums Tuberkulöser auf Typhusbakterien. Inaug.-Diss. Würzburg, **1907**.

Breuer, R., Zur Widalschen Serodiagnostik des Abdominaltyphus. Berl. klin. Wochenschr., **1896**, S. 322.
Brieger, Ueber Spaltungsprodukte der Bakterien. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 9.
Brieger & Mayer, Weitere Versuche zur Darstellung spezifischer Substanzen der Bakterien. Deutsche med. Wochenschr., **1903**, S. 309.
Brieger & Schütze, Ueber die Darstellung einer spezifisch wirkenden Substanz aus Typhusbakterien. Deutsche med. Wochenschr., **1902**, S. 477 u. 478.
Brion, Paratyphus. Deutsche Klinik, **1904**; Verhandl. der 77. Naturforscherversammlung, **1905**; Deutsches Archiv f. klin. Med., 1885, H. 5—6.
Brion & Kayser, Ueber eine Erkrankung mit dem Befunde eines typhusähnlichen Bakteriums im Blute (Paratyphus). Münch. med. Wochenschr., **1902**, S. 15.
Brouha, Sur les propr. du sérum d. cancer au point de vue aux anticorps des levures. Centralbl. f. Bakt., Bd. 30, **1901**.
Brown & Crampton, Note on the persistence of the Gruber-Widal reaction in convalescent from typhoid fever. Lancet **1900**.
Bruck, Karl, Ueber spezifische Immunkörper gegen Gonokokken. Deutsche med. Wochenschr., **1906**, S. 1368.
Bruck, Michaelis & Schulze, Beiträge zur Serodiagnostik der Staphylokokkenerkrankung bei Menschen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 50, H. 1, **1905**.
Brückner, Nachuntersuchungen bei Personen, die Typhus überstanden haben. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 33, **1910**.
Brunner, Wien. klin. Wochenschr., **1900**.
Brünning, Ueber infektiös-fieberhaften Ikterus (M. Weilii) im Kindesalter, zugleich ein Beitrag zur Pathogenese des Bac. fluor. prot. Deutsche med. Wochenschr., **1904**, Nr. 36.
Bruno, Ueber Diphtherieagglutination und Serodiagnostik. Berl. klin. Wochenschr., **1898**, Nr. 51.
Bruns & Kayser, H., Ueber die Verwertbarkeit des Agglutinationsphänomens usw. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 43, 401, **1903**.
Brunton, On a possible cause of clumping in bacilli etc. Journ. of path. and bact., Vol. 5.
Bryant, On the value of serum diagnosis etc. Lancet, **1903**, Vol. 2, 360.
Burdach, A., Der Nachweis von Typhusbacillen am Menschen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 41, 305.
[1] Bürgers, Tätigkeit des Untersuchungsamtes in Königsberg 1910. Hyg. Rundsch., **1911**, S. 959.
[2] — Bakteriologische Ergebnisse der Choleraepidemie 1909 in Ostpreußen. Hyg. Rundschau, **1909**, S. 169.
Bürgers & Hösch, Ueber Angriffsstoffe (Aggressine). Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, 14, **1909**.
[1] Bürgi, Ueber Bakterienagglutinine durch normale Sera. Arch. f. Hyg., Bd. 62, 239, **1907**.
[2] — Agglutination und Kolloidreaktionen. Korr.-Bl. f. Schweizer Aerzte, **1907**, S. 181.
Burri, Zur Frage der Mutationen bei Bakterien der Coligruppe. Centralbl. f. Bakt., Bd. 54, 210, **1910**.
Burri & Andrejew, Vergleichende Untersuchungen einiger Coli- und Paratyphusstämme. Centralbl. f. Bakt., Bd. 56, 217, **1910**.
[1] Busson. Ueber Coli-Mitagglutination durch Immunsera verwendbarer Arten. Centralbl. f. Bakt., Bd. 57, 351, **1911**.
[2] — Ueber Paragglutination. Centralbl. f. Bakt., **1912** (im Erscheinen begriffen).
[1] Busson, B., Müller, Th., & Rintelen, Aug., Weitere Aviditätsstudien an Agglutininen, III.—VI. Mitteilung. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 217, **1909**.
[2] — — — Weitere Aviditätsstudien an Agglutininen, VII.—IX. Mitteilung. Ebenda, Bd. 7, 287, **1910**.
Buxton, B. H., Schaffer, B., Teague, O., Die Agglutination und verwandte Reaktionen in physik.-chem. Hinsicht. Zeitschr. f. physik. Chemie, Bd. 57, S. 47, 64, 76.
Buxton & Torrey, J. of med. research., **1905/06**.
Cabot, Remarks of Widal clump reaction in typhoid fever. Boston journ., **1897**; Amer. med. assoc., Vol. 2, **1897**.
Cagnetto, Contributo allo studio delle agglutinine. Accad. med., Padova **1909**.
Calcar, Dialyse, Eiweißchemie und Immunität. Leipzig, Barth, **1908**.

[1] Calmette & Querin, Sur quelques propriétés du bac. tuberc. d'origine bovine. Compt. rend. acad. sc., T. 69, 716, **1909**.
[2] — — Sur la résorption des bacilles tuberculeux. Ebenda, T. 151, **1910**.
Cambier & Emery, Revue d'hygiène, février **1902** u. **1903**, zit. b. Bancel.
Camisa, La serodiagnosi negli ammalati di corea minor. Accad. med. Parma **1910**. Ref. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1043.
Camy, G., Les races colibacillaires. Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, 769.
[1] Cantani, Ueber die agglutinative Eigenschaft der Galle. Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, 731, **1903**.
[2] — Immunisierungsversuche gegen Influenza. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 42, 505.
Carrière, G., Le sérodiagnostic de la tuberculose. Compt. rend. soc. Biol., **1901**, p. 746.
Carega, Al., Ueber die aktive Substanz von B. coli. Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, Nr. 4.
Castaigne, Transmission par l'allaitement etc. Compt. rend. soc. Biol., 13. XI. 1897.
[1] Castellani, A., Ueber das Verhältnis der Agglutinine zu den Schutzkörpern. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37, 381, **1901**.
[2] — Agglutination bei gemischter Infektion und Diagnose der letzteren. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, 203.
Ceni, C., Del valore pratico dei metodi del Ficker e dello Sclavo per la sierodiagnosi nella febbre tifoide. Riv. crit. di clin. med., **1907**, Nr. 16.
Cerritto, Intorno alla tecn. della sierodiagn. del tifo. Ann. d'Ig. sper., Vol. 14, 411, **1904**, nach Münch. med. Wochenschr., **1905**, S. 1152.
Cesari, Prophylaxie des infections alimentaires. Rev. vétér., T. 33, Nr. 9. Ref. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 705.
Chamberlent & Philippe, St., Fièvre typhoide, accouchement prématuré, propriété agglutinative du sang chez la mère et chez l'enfant. Soc. gyn. et obst. de Bordeaux, 10. XI. **1896**.
Chantemesse, Sem. méd., **1897**, p. 303.
Chantemesse & Widal, zit. nach Bensaude, Phénomène de l'agglutination, Paris **1897**, p. 42.
Chantemesse & Ramond, Fièvre typhoide expérimentale. Compt. rend. soc. Biol., **1897**, p. 719.
Charrin & Roger, Note sur la développement des microbes pathogènes dans le sérum des animaux vaccinés. Compt. rend. soc. Biol., Paris **1899**, p. 667.
Charrière & Appert, Recherche de la réaction agglutinante dans les humeurs d'un embryon etc. Compt. rend. soc. Biol., 7. XI. **1896**, und Presse méd., Nov. **1896**.
Chavigny. Maladies associées. Rev. de méd., **1903**, p. 59.
Chiray & Sartory, Imperméabilité rénale aux agglutinines. Compt. rend. soc. Biol., T. 65, 586, **1908**.
Chrains & Wenhardt, zit. nach Aujeszky & Wenhardt, Ueber die Agglutination der Pestbacillen. Berl. klin. Wochenschr., **1902**, S. 748.
Christophers, Normal serum in relation to the diagnosis of the typhoide bacillus. Brit. med. journ., 16. II. **1897**.
Chvostek, Zur Frage der Immunisierung per os. Wien. klin. Wochenschr., **1908**, S. 453.
Chyosa, H., Ueber die agglutinable Substanz. Arch. f. Hyg., Bd. 72, 191, **1910**.
Citron, Zur Beurteilung der Hogcholeragruppe. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 53, **1906**.
Clairmont, Differentialdiagnostische Untersuchungen über Kapselbacillen. Zeitschrift f. Hyg., Bd. 39.
Clamann, Zur Technik der serodiagnostischen Reaktion mittels des Fickerschen Typhusdiagnostikums. Deutsche med. Wochenschr., **1904**, Nr. 28, S. 1025.
Cler & Ferrazi, zit. nach Baumgartens Jahresb., **1904**, S. 409.
Coenen, Beitr. z. klin. Chir., Bd. 60, **1908**.
Cohn, E., Ueber die Immunisierung von Typhusbacillen gegen die bakteriziden Kräfte des Serums. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 45, **1903**.
Cole, J. Rufus, Ueber die Agglutination verschiedener Typhusstämme. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 46.
Colemann & Buxton, Paratyphoide Infection. Amer. journ. of med. sc., August **1902**.
Collins, The production of agglutinins in the animal body by the inoculation of substances other then products of bacterial origin. Journ. of exp. med., Vol. 10, 529, **1909**.

Conor, Fièvre mediterranée expérimentale chez le chien (soll heißen Schaf). Compt. rend. soc. Biol., T. 68, Nr. 10, **1910**.
[1] Conradi, Ueber Mischinfektion durch Typhus- und Paratyphusbacillen. Deutsche med. Wochenschr., **1904** und Klin. Jahrb., Bd. 17.
[2] — Ueber die Züchtung von Typhusbacillen aus dem Blute mittels Gallenkultur. Münch. med. Wochenschr., **1906**, Nr. 34.
[3] — Ueber alimentäre Ausscheidung von Paratyphusbacillen. Klin. Jahrb., Bd. 21,
Conradi, Drigalski & Jürgens, Ueber eine unter dem Bilde des Typhus verlaufende durch einen besonderen Erreger bedingte Epidemie. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 42, **1902**.
[1] Courmont, Paul, Séroprognostic de la fièvre typhoïde. Paris **1897**.
[2] — Du sérodiagnostic de la fièvre typhoïde. Compt. rend. soc. Biol., **1896**, p. 819 und Sém. méd., **1896**.
[3] — Deuxième note sur l'aggl. du bac. de Nicolaier. Compt. rend. soc. Biol., p. 163.
[4] — Disparition in vitro du pouvoir agglutinant des humeurs des typhiques. Compt. rend. soc. Biol., 27. III. **1897**.
[5] — Sérodiagnostic des épanchements tuberculeux des séreuses. Congrès de la Tuberculose, Paris **1898**.
[6] — Action des épanchements des séreuses tuberculeux ou non sur les cultures de bacilles de Koch en milieu liquide. Compt. rend. soc. Biol., 28. V. **1898**.
[7] — Repartition, formation et destruction de la substance agglutinante. Sem. méd., **1897**, p. 105.
[8] — L'agglutination du bacille de Koch par les épanchements tuberculeux. Compt. rend. soc. Biol., 24. XI. **1900**.
[9] — Courbes agglutinantes chez les typhiques. Rev. de méd., T. 20, 317—339 et 483, **1900**.
Courmont, P., & Cade, Transmission de la substance agglutinante par l'allaitement. Compt. rend. soc. Biol., **1899**, p. 619.
Courmont & Julien, De l'agglutination du bac. de Nicolaier par le sérum d'animaux normaux, tétaniques ou immunisés. Arch. de méd. expér., p. 54.
Courmont, J., & Rochaix, Technique de la détermination du bac. d'Eberth etc. Compt. rend. soc. Biol., T. 69, 136, **1910**.
Craw, And., Mechanisme of agglutination. Pathol. Society, Febr. **1904**; Lancet, **1904**, Vol. 1, 434; Journ. of Hyg., Vol. 5, 113, **1905**.
Crien, Tuberkulose und Maltafieber. Journ. of trop. med., **1907**.
Curry, The fevers of the Philippines. Boston med. and surg. journ., **1901**.
Cushing, John Hopkins Hosp. Bull., **1900**, p. 156.
Czaplewsky, Bluttupferröhrchen zur Erleichterung der Gruber-Widalschen Reaktion. Münch. med. Wochenschr., **1906**.
Dawson, Hog Cholera. New York med. journ., 20. II. **1897**.
Dehne & Hamburger, Experimentaluntersuchungen über die Folgen parenteraler Einverleibung von Pferdeserum. Wien. klin. Wochenschr., **1904**.
D'Espine & Mallet, Note sur le sérodiagnostic de la fièvre typhoïde. Rev. méd. de la Suisse rom., **1898**, Nr. 3.
[1] Defalle, Recherches sur le rôle de l'enveloppe des microbes dans l'agglutination. Ann. Pasteur, **1902**, p. 756.
[2] — Sur le rôle des enveloppes des bactéries. Ann. Pasteur, **1902**.
Delephine, The technique of serum diagnosis etc. Brit. med. journ., Vol. 1, 967, **1897**.
Dennemark, Die Gruber-Widalsche Reaktion bei klinisch Gesunden in der Umgebung Typhuskranker. Centralbl. f. Bakt., Bd. 54, 374.
Denys, Compte-rendu des travaux exécutés sur le streptocoque pyogène. Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 24, 685.
Deutsche Pestkommission, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 16, **1897**.
[1] Deutsch, Die Serodiagnostik des Typhus etc. Gesellsch. d. Aerzte Budapest, 20. II. **1897**; Centralbl. d. med. Wiss., **1903**, Nr. 23.
[2] — Zur Frage der Agglutininbildung. Centralbl. f. Bakt., **1900**, Nr. 2.
[3] — Contribution à l'étude de l'origine des anticorps typhiques. Ann. Pasteur, **1899**, p. 689.
[1] Dieudonné, Experimentelle und kritische Beiträge zur Kenntnis der agglutinierenden Stoffe der Immunsera. Habilitationsschrift, Würzburg **1898**.
[2] — Schutzimpfung und Serotherapie, Leipzig **1900**.
[3] — Die Vererbung der Agglutinine bei cholera-immunisierten Meerschweinchen. Festschr. d. phys.-med. Gesellsch., Würzburg **1899**.
Dieudonné & Röper, Inaug.-Diss. Würzburg, **1901**.

[1] Dineur, Recherches sur le mécanisme de l'agglutination du bac. typhique. Bull. acad. roy. de méd. de Belgique, **1898**.
[2] — Le sérodiagnostic de la fièvre typhoïde envisagé au point de vue de sa valeur sémiologique. Bull. acad. roy. de méd. de Belgique, **1897**, Nr. 9, p. 705.
Donath, Baumgartens Jahresbericht, **1897**, S. 636. Ref. von Paltauf.
Doebert, Die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen dem Bacillus alcaligenes und dem Typhusbacillus. Arch. f. Hyg., Bd. 52, 70, **1905**.
Dörr, Beitrag zur Kenntnis des Dysenteriebacillus. Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 34, 385.
[1] Dreyer, G., Ueber die Anwendung von getöteten Kulturen zur Widalschen Reaktion. Hosp. Tid., 4. R., Bd. 14, 532; Ref. Baumgartens Jahresber., **1906**.
[2] — Ein Fall von Mischinfektion von Ty. abdom. u. Maltafieber. Münch. med. Wochenschr., **1909**, S. 2482.
Dreyer & Blake, J., Mém. de l'acad. roy. d. sc. de Danemark, Sér. 7, T. 1.
Dreyer & Douglas, Proc. roy. soc., Vol. 82, 185, **1910**.
Dreyer, G., & Walker, A., Brit. med. journ., Vol. 1, 151, **1909**.
[1] v. Drigalski, Ueber Ergebnisse bei der Bekämpfung des Typhus. Centralbl. f. Bakt., Bd. 35, 776, **1904**.
[2] — Ueber eine durch Genuß von Pferdefleisch veranlaßte Massenvergiftung. Festschr. z. 60. Geburtstag R. Kochs, S. 409.
Drude & Nernst, zit. nach Friedemann.
Dubard, Sur quelques propriétés nouvelles du bacille de Koch. Compt. rend. soc. Biol., **1898**, p. 474.
[1] Dubois, La fièvre de Malta chez les animaux domestiques. Rev. vétér., T. 35, **1910**.
[2] — Divers cas de fièvre de Malta d'origine ovine. Ibid.; Ref. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3, 703, **1910**.
Duclaux, E., Traité de microbiologie, T. 2, 254 ff.
v. Dungern, Die Antikörperbildung. Festschr. f. Koch, **1904**.
[1] Durham, Some theoretical considerations upon the nature of agglutinins, together with further observations upon Bact. typhi abdom. etc. Journ. exp. med., Vol. 5, 353.
[2] — Observations on micrococcus melitensis. Journ. of path. and bact., Vol. 5, 378, **1898**.
[3] — Note on the diagnostic value of the serum of typhoid fever patients. Lancet, 19. Dec. **1896**; Münch. med. Wochenschr., **1898**, Nr. 5 und b. c., Abschnitt I, II und III.
[4] — A theory of active and passive immunity. Lancet, **1897**, Vol. 2, 410.
[5] — On the serumdiagnosis of typhoid fever with especial reference to the bacillus of Gaertner and its allies. Lancet, 15. I. **1898**.
[6] — Journ. of path. and bact., **1897**.
[7] — On an epidemy of gastroenteritis associated with a variety of the bacillus enteritidis. Brit. med. journ., Vol. 2, 588, **1898**.
[8] — Proceedings of the Royal Society, Vol. 59, London **1896**, Nov.
[9] — The agglutinating or sedimenting properties of sera and their relation to immunity. Lancet, **1898**, Vol. 2, 446,
Durham, H., & Gruber, A theory of active and passive immunity etc. Lancet, **1897**, Vol. 2, 910.
Eberle, J., Ueber Agglutination der Meningokokken etc. Arch. f. Hyg., Bd. 64, 171, **1908**.
Ebstein, Wissenschaftl. Verein d. Aerzte zu Stettin. Sitzung vom 5. März, **1907**.
Eccard, Zur Bekämpfung und Prophylaxe des endemischen Typhus in Internaten. Münch. med. Wochenschr., **1910**, p. 103.
Eckard, Serumreaktion bei Weilscher Krankheit. Münch. med. Wochenschr., **1902**, S. 1129.
Ehrlich & Morgenroth, Ueber Hämolysine. Berl. klin. Wochenschr., **1901**, Nr. 21 und 22, vgl. Schlußbetrachtungen, Bd. 8, der spez. Path. und Therapie, herausgeg. v. Nothnagel, Wien **1901**.
Ehrsam, Ueber das Fickersche Typhusdiagnostikum. Münch. med. Wochenschrift, **1904**, Nr. 15.
[1] Eisenberg, Ph., Beiträge zur Fadenreaktion. Wien. klin. Wochenschr., **1900**, Nr. 48.
[2] — Ueber die Anpassung der Bakterien an die Abwehrkräfte des infizierten Organismus. Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, 739, **1903**.

[3] Eisenberg, Ph., Ueber die Bindungsverhältnisse zwischen Toxin und Antitoxin. Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, 259, **1903**.
[4] — Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation. Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, **1906**.
[5] — Beiträge zur Kenntnis der spezifischen Präzipitationsvorgänge. Bull. Ac. Crac., **1902**, p. 289.
Eisenberg & Keller, Ueber die Spezifität der Serodiagnostik der Tuberkulose. Centralbl. f. Bakt., **1903**.
Eisenberg & Volk, Untersuchungen über die Agglutination. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 46, 155.
v. Eisler, M., Ueber den Zusammenhang der Wertigkeit und Avidität bei Bakterienagglutininen. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 1, 297.
v. Eisler & Laub, Ein Beitrag zur Kenntnis der Avidität der Agglutinine. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 5, 248, **1910**.
v. Eisler & Porges, Ueber die Differenzierung der Kapselbakterien mit Hilfe agglutinierender und präzipitierender Immunsera. Centralbl. f. Bakt., Bd. 42, 660, **1906**.
v. Eisler & Tsuru, Ueber Bindungsverhältnisse der Agglutinine. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 6, 327, **1910**.
Eisler & So, Besteht ein Zusammenhang zwischen Agglutinabilität und Bindungsvermögen etc. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, 136, **1911**.
Ellermann, Paratyphus. Hospitalstid., **1906**, Nr. 40.
Elsberg, The serum diagnosis of typhoid fever. New York med. Rec., Vol. 51, p. 510.
Emmerich & Löw, Bakteriolyt. Enzyme als Ursache der erworbenen Immunität. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 31, 1, **1899**.
Engels, Die Diagnose der Vibrionen mit Hilfe des Chrysoidins. Centralbl. f. Bakt., Bd. 21, **1897**.
Epiphanow, C., Zur Methodik der Widalschen Reaktion. Zit. nach Baumgartens Jahresbericht, Bd. 13, 371, **1897**.
v. Ermengem, Recherches sur des empoisonnements produits par de la viande de veau à Moorseele. Bull. acad. de méd. de Belgique, **1892**.
[1] Escherich, Pyocyaneusinfektionen bei Säuglingen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 25. 117, **1899**.
[2] — Zur Aetiologie der Dysenterie. Centralbl. f. Bakt., Bd. 26, 385, **1899**.
Etienne, Formation autonome des substances agglutinantes par l'organisme foetal au cours d'une fièvre typhoïde maternelle. Compt. rend. soc. Biol., **1899**, p. 860.
Evangelista, Sul potere agglutinante del siero dei tuberculotici sul cocco melitense. Rif. med., Vol. 25, 959, **1909**.
Evans Laming, The variations in bactericidal value of the serum of patients convalescent from the typhoid fever etc. Journ. of path. and bact., **1903**.
Evers & Mühlens, Cholelithiasis paratyphosa und Paratyphuserkrankung, ein Beitrag zur Frage der Bacillenträger. Deutsche militärärztl. Zeitschr., Jahrg. 38, H. 9.
Eyre, J. W., Maltafieber. Kolle-Wassermann, 1. Aufl., 1. Ergänzungsband, S. 601, **1907**.
Falta & Noeggerath, Rassenunterschiede von Typhusstämmen und über Hemmungskörper im Serum in ihrer Bedeutung für die Gruber-Widalsche Reaktion. Deutsch. Arch. f. klin. Med., Bd. 83, 150, **1905**.
Ferran, Note relative aux aptitudes saprophytiques du bac. de Koch et à ses affinités avec le bac. du typhus et le coli bac. Acad. des scienc., Barcelone **1897**; Journ. de physiol. et pathol. gén., **1903**.
de Feyfer & Kayser, Eine Endemie von Paratyphus. Deutsche med. Wochenschr., **1902**, Nr. 41 u. 42.
[1] Ficker, Zur Agglutinationstechnik. Hyg. Rundschau, **1902**, S. 1129.
[2] — Ueber ein Typhusdiagnostikum. Berl. klin. Wochenschr., **1903**, Nr. 45.
Figari, Antitoxine und Agglutinine im Blute immunisierter Tiere. Berl. klin. Wochenschr., **1904**, Nr. 7.
Fiocca, Policlinico, **1900**. Ref. Centralbl. f. inn. Med., Bd. 32, **1901**.
Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien, Jena **1903**.
Fischer, Alf., Welchen praktischen Wert hat die Widalsche Reaktion. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 32, **1899**.
[1] Fischer, B., Epidemiologie des Paratyphus. Festschr. f. Rob. Koch, **1903**, S. 271.
[2] — Zur Aetiologie der sog. Fleischvergiftungen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 39, 447, **1902**.

Fischer, Beitrag zur Frage der Identität des Meningococcus (Weichselbaum) und des Diplococcus intracell. (Jäger) mit besonderer Berücksichtigung der Agglutinationsverhältnisse dieser beiden Diplokokkenarten. Arch. f. Hyg., Bd. 65.
Fischer, H., Bedeutung der Agglutination zur Diagnose der pathogenen und saprophyt. Streptokokken. Centralbl. f. Bakt., Bd. 37, S. 449, 597, **1904**.
Fitzgerald & Ewart, Lancet, **1899**.
Fiorentini, P., Typhusdiagnosticum Fickers e reazione di Widal. Riv. crit. di clin. med., **1907**, Nr. 19.
Fleischhanderl, Mitteilungen über einige Krankheitsfälle durch Mäusetyphusbacillen. Münch. med. Wochenschr., **1909**, S. 392.
Flexner, Comparative study of dysenteric bacilli. Centralbl. f. Bakt., Bd. 30, S. 449, **1901**.
Floris, Sulla diagnosi differenziale fra malaria etc. Ref. Zeitschr. f. Immunitätsf., Ref., Bd. 1, 223, **1909**.
Fodor & Rigler, Das Blut mit Typhusbacillen infizierter Tiere. Centralbl. f. Bakt., Bd. 23, 930, **1898**.
Fonteyne, Agglutinin und Antiagglutinin. Centralbl. f. Bakt., Bd. 52, 377, **1909**.
Ford, Beitrag zur Lehre von den Hämagglutininen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, S. 363.
Forment, Internat. Tuberkulosekongreß, Paris **1905**.
Fornet, W., & Müller, M., Praktische und theoretische Präzipitinuntersuchungen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 66, 215, **1910**.
Förster, Quantitative Untersuchungen über die agglutinierende und bakterizide Wirkung des Blutserums von Typhuskranken und Rekonvaleszenten. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 24.
Foulerton, Lancet, **1897**, p. 1201.
Frank, Robinson & Potts, Brit. med. journ., Mai **1905**.
[1] Fraenkel, C., Ueber den Wert der Widalschen Probe zur Erkennung des Typhus abdominalis. Deutsche med. Wochenschr., **1897**, Nr. 3.
[2] — Weitere Erfahrungen über den Wert usw. Ebenda, **1897**, Nr. 16.
[3] — Untersuchungen über die Serodiagnose der Tuberkulose nach dem Verfahren von S. Arloing und P. Courmont. Hyg. Rundsch., **1900**, Nr. 13.
Fraenkel & Otto, Experimentelle Beiträge zur Lehre von der Agglutinationswirkung des Typhusserum. Münch. med. Wochenschr., **1897**, Nr. 39.
Fraenkel, E., Zur Widalschen Serumreaktion. Münch. med. Wochenschr., **1897**, S. 367.
[1] Friedberger, E., Untersuchungen über die Bedeutung der Salze für die Agglutination. Centralbl. f. Bakt., Bd. 30, **1901**.
[2] — Ueber die Wirkungsweise anorganischer Salze und organischer Kristalloide auf die Agglutination der Bakterien. Ebenda, Bd. 31, **1902**.
[3] — Die spezifischen Serumveränderungen bei Cholerabacillenzwischenträgern. Ebenda, Bd. 40, 405, **1906**.
Friedberger & Luerssen, Zur bakteriol. Choleradiagnose. Deutsche med. Wochenschr., **1905**, Nr. 40.
Friedberger & Moreschi, Aktive Immunisierung von Kaninchen etc. Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, 453, **1905**.
Friedberger & Nasetti, Ueber die Antikörperbildung bei parabiotischen Tieren. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 2, 509, **1909**.
[1] Friedemann, Ulrich, Organeiweiß und Nahrungseiweiß. Arch. f. Hyg., Bd. 60.
[2] — Ueber die Fällungen von Eiweiß durch andere Kolloide etc. Arch. f. Hyg., Bd. 55, 361.
Friedrich & Gardiewski, Fleischvergiftung durch B. enteritidis. Centralbl. f. Bakt., Bd. 51, 509, **1908**.
Fritzsche, Ernst, Experimentelle Untersuchungen über biologische Beziehungen des Tuberkelbacillus zu einigen anderen säurefesten Mikroorganismen und Aktinomyceten. Arch. f. Hyg., Bd. 65.
[1] Fromme, A., Centralbl. f. Bakt., Bd. 43.
[2] — Aetiologie des Typhus und Paratyphus. Lubarsch-Ostertags Ergebnisse, Bd. 13, S. 27.
Frouin, Sur la filtration des Agglutinines. Soc. de Biol., T. 67, **1909**.
Fukuhara, Beziehungen der Bakterienpräzipitine zu den Agglutininen. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 2, 305, **1909**.
Furukawa, I., Agglutination und Salzgehalt. Mitteilung der med. Gesellsch. in Tokio. Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 33, 744.

Fürth, Ueber die Agglutination des Blutserums von Ruhrkranken. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg., Bd. 16, 579, **1910**.

[1] Gaehtgens, Walter, Beitrag zur Agglutinationstechnik. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amte, Bd. 25.

[2] — Ueber die Typhusantigene und ihre Antikörper. Centralbl. f. Bakt., Bd. 48, 223, **1908**.

[3] — Ueber fötale Typhusinfektion. Münch. med. Wochenschr., **1909**, Nr. 66.

[4] — Ueber die Beschleunigung der Agglutination durch Zentrifugieren mit besonderer Berücksichtigung der Meningokokkenagglutination. Arch. f. Hyg., Bd. 66.

[5] — Ueber die Beziehungen der Bakterienpräzipitine zu den Agglutininen. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, 559.

[6] — Erfahrungen über den Wert der Gruber-Widalschen Probe etc. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amte, Bd. 26, **1907**.

Gaehtgens & Kamm, Welchen Wert hat die Fadenreaktion usw. Münch. med. Wochenschr., **1910**, S. 1389.

Galeotti, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 40, 494.

de Garcia, Die Serumdiagnose der Tuberkulose. Berl. klin. Wochenschr., **1902**, Nr. 11.

Gargano & Fattori, Sulla agglutinazione del diplococco. Riv. di clin. med., **1903**. Ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 35, **1904**.

Gaucher & Abrami, Le sérodiagnostic des formes atypiques de la Lèpre. Lepra, biblioth. internat., Vol. 8, **1909**.

Geisse, Ueber Coliagglutination. Centralbl. f. Bakt., Bd. 46, 359, **1908**.

[1] Gengou, O., Etudes sur les rapports entre les agglutinines et les lysines dans le charbon. Ann. Pasteur, T. 13, 642, **1899**.

[2] — Recherches sur l'agglutination dans le charbon et les relations entre les divers propriétés du sérum. Arch. internat. de pharm. et de thérapie, T. 6, 289, **1899**.

Germano, Ricerche sulla specifità del l'agglutinazione del bac. coli. Biochem. e terap. speriment., Vol. 1, 485—492, **1910**.

Gheorghievski, Du mécanisme de l'immunité vis-à-vis du bac. pyocyanique. Ann. Past., T. 13, 298, **1899**.

Gilbert & Lipmann, De la réaction agglutinante dans l'ictère. Compt. rend. soc. Biol., 19. XII. **1903**.

Gilbert & Fournier, Contribution à l'étude de la psittacose. Compt. rend. soc. Biol., 19. XII. **1896**.

Glässner, Ueber den Einfluß der chemischen Zusammensetzung des Nährbodens auf die Immunkörper. Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther., Bd. 1, 640, **1905**.

Goldberg, Die Agglutinationsreaktion bei Infektion verschiedenen Grades. Centralbl. f. Bakt., Bd. 30, 605, **1901**.

Gossner, Zur bakteriologischen Diagnose. Münch. med. Wochenschr., **1905**, S. 347.

Gotschlich, Ueber Cholera- und choleraähnliche Vibrionen etc. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 53, **1906**.

Göthlein, Hygiea, **1907**, Nr. 3; zit. nach Deutsche med. Wochenschr., **1907**, S. 693.

Graham, Liebigs Annalen, Bd. 121.

Gramann, Zur Serodiagnostik des Typhus abdom. mittels des Fickerschen Typhusdiagnostikums. Deutsche med. Wochenschr., **1904**, Nr. 21.

[1] Grassberger, Ein Fall von Gasphlegmone (Streptokokken und Proteus). Jahrbuch der Wiener Krankenanstalten, **1896**.

[2] — Morphologie des Rauschbrandbacillus und des Oedembacillus. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 48, 1, **1904**.

Gräf, Zur bakteriologischen Typhusdiagnose. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 54, **1906**.

Griffith, Fetal typhoid fever and the Widalreaction. Med. News Phil., **1897**, Nr. 20.

Griffon, Infection mixte à bacilles d'Eberth etc., zit. nach Baumgartens Jahresbericht, Bd. 19, 286, **1903**.

Grimm, Atypische Erscheinungen bei der Typhusdiagnostik. Centralbl. f. Bakt., Bd. 54, 373.

Grisez & Job, Die vorzeitige Diagnose der Tuberkulose in der Armee und die Serumdiagnose von Arloing u. Courmont. Rev. de méd., **1906**. Ref. Münch. med. Wochenschr., **1907**, Nr. 10.

Gossner, Eine einfache und bequeme Agglutinationsprüfung etc. Deutsche med. Wochenschr., **1907**, S. 1905.

Gross, Untersuchungen über Agglutination von Typhus- und Paratyphusbacillen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 47, 519.
[1]Gruber, M., Wien. k. k. Gesellsch. d. Aerzte, 20. Febr. **1896**.
[2]— Aktive und passive Immunität gegen Cholera und Typhus. Wien. klin. Wochenschr., **1896**, Nr. 11 und 12.
[3]— Ueber aktive und passive Immunität gegen Typhus und Cholera. Verhandl. des 14. Kongr. f. innere Medizin, **1896**, S. 207.
[4]— Beitrag zur Serumdiagnostik des Typhus abdominalis. Münch. med. Wochenschrift, **1897**, Nr. 27.
[5]— Zur Theorie der Agglutination. Münch. med. Wochenschr., **1899**, S. 1329.
[6]— Ref. am XVI. internat. Kongr. f. Hyg., Brüssel **1903**, I. Sektion.
[1]Gruber & Durham, Eine neue Methode zur raschen Erkennung des Choleravibrios und des Typhusbacillus. Münch. med. Wochenschr., **1896**, Nr. 13.
[2]— — Theorie der aktiven und passiven Immunität gegen Cholera, Typhus und verwandte Krankheitsprozesse. Münch. med. Wochenschr., **1896**, Nr. 9.
[1]Grünbaum, Preliminary note on the use of the agglutinative action of human serum etc. Lancet, **1896**, Vol. 2, 806.
[2]— Blood and the identification of bacterial species. Scienc. progr., Vol. 1, Nr. 5, **1897**.
[3]— On the agglutination action of human serum. Lancet, **1896**, Vol. 2, 1747.
[4]— Ueber den Gebrauch der agglutinierenden Wirkung von menschlichem Serum für die Diagnose des Abdominaltyphus. Münch. med. Wochenschr., 30. März **1897** und Un mot sur l'histoire du sérodiagnostic. Ann. de l'Inst. Pasteur, **1897**.
[5]— Theorie of immunity, Lancet, **1903**, p. 944.
Grünberg & Rolly, Beitrag zur Frage der agglutinierenden Eigenschaften des Serums Typhuskranker auf Paratyphus und verwandte Bakterien. Münch. med. Wochenschr., **1905**, Nr. 52.
Grüner, Ueber Agglutinationsbacillen tuberkulöser Kinder. Klinik der Tuberkulose, Bd. 14, Heft 1, **1909**.
[1]Guérard, A., The serum diagnosis of typhoid fever. Journ. of Amer. med. assoc., Vol. 29.
[2]— The present status of the Widal reaction as a diagnostic test up typhoid fever. New York med. journ., **1900**, p. 592.
Güttler, Vorteile und Nachteile des Fickerschen Typhusdiagnostikums. Berl. klin. Wochenschr., **1904**, Nr. 51.
Gwyn, Johns Hopkins Hosp. Bull., **1898**, p. 54.
Haedke, Die Diagnose des Abdominaltyphus und Widals diagnostisches Verfahren. Deutsche med. Wochenschr., **1897**, S. 21.
Haendel, Zur Differenzierung der Ruhrbacillen mittels der Agglutination, der Komplementablenkung und der bakteriotropen Immunserumwirkung. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 28, 358.
Haendel & Hine, Konservierung agglutinierender Sera. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 29, **1908**.
Haendel & Woithe, Vergleichende Untersuchungen frisch isolierter Cholerastämme mit älteren Cholera- und El Tor-Kulturen. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 34, S. 17.
Hahn & Trommsdorff, Ueber Agglutinine. Münch. med. Wochenschr., **1900**, S. 413.
Haim, E., Beitrag zur Pathogenität des Bac. proteus. Wien. klin. Wochenschr., **1903**, S. 585.
Halban, Recherches sur l'action sporicide du sérum. Ann. Pasteur, T. 13, 417, **1898**.
Halban & Landsteiner, Ueber Unterschiede des fötalen und mütterlichen Serums usw. K. k. Gesellsch. d. Aerzte in Wien. Wien. klin. Wochenschr., **1901**, Nr. 51.
Hamburger, Ueber spezifische Virulenzsteigerung in vitro. Wien. klin. Wochenschr., **1903**, Nr. 4.
Hammerschlag, Ueber Widals Typhusreaktion. Prag. med. Wochenschr., **1897**, Nr. 30—32.
Hardy, Journ. of physiol., Vol. 24, **1899**; Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 33, 385, **1901**.
Harrison, The agglutinating substance. Centralbl. f. Bakt., Bd. 30, 115, **1901**.
Hasenknopf & Salge, Ueber Agglutination bei Scharlach. Jahrb. f. Kinderheilk., Bd. 58, **1903**.

HAWTHORN, Essai de sensibilisation du bac. tuberculeux. Compt. rend. soc. Biol., T. 68, 775, **1910**.
HECKER & OTTO, Die Typhusepidemie im X. Korps. Bilder des Sommers **1909**.
HEDON, Sérum agglutinant des levures. Compt. rend. soc. Biol., 9. III. **1902**.
HEFFERAN, Agglutination and biological relationship etc. Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, 553, **1906**.
HEIM, Erschließung ergiebiger Quellen von Schutzstoffen. Münch. med. Wochenschrift, **1909**, Nr. 1.
HELLER, Bakteriologische Befunde bei einer Fleischvergiftungsepidemie. Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 43, 146, **1907**.
HERMANN, Intoxication carnée de Sirault. Arch. de méd. exp., **1899**.
HETSCH, Ueber die Differenzierung der wichtigsten Infektionserreger. Klin. Jahrb., **1904**.
HETSCH & LENTZ, Beitrag zur Frage nach der Spezifizität der im Serum des normalen und choleraimmunisierten Pferdes enthaltenen Agglutinine. Festschr. zu Ehren KOCHS, **1904**, S. 17.
HEWLETT, Report of a case of paratyph. fever. Amer. journ. of med. sc., August **1902**.
HEYROWSKY, Ein Beitrag zur Biologie und Agglutination des Diploc. pneum. Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, **1905**.
HINTERBERGER, Färbungen agglutinierter Typhusbacillen mit Silbernitrat. Centralbl. f. Bakt., Bd. 36, 457, **1904**.
HIRSCHBERG, Akute Orchitis durch Pyocyaneusinfektion. Deutsche med. Wochenschrift, **1907**.
HIRSCHBRUCH, A., Die experimentelle Herabsetzung der Agglutinierbarkeit beim Typhusbacillus durch die Stoffwechselprodukte des Pyocyaneusbacillus. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 28, 383, **1908**.
[1] HIRSCHFELD, H., Einfluß der Temperatur auf die agglutinierende Substanz. Arch. f. Hyg., Bd. 60, H. 3.
[2] — Die Verwendung des Prinzips der Komplementablenkungen zur Typhusdiagnose. Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 61, H. 3/4.
HOFMANN, A., Die Serodiagnostik des Typh. abdom. Centralbl. f. inn. Mediz., **1897**, Nr. 20.
[1] HOFMANN, W., Zur Frage des Paratyphus mit besonderer Berücksichtigung der bei ihm fehlenden Widalschen Reaktion. Hyg. Rundschau, **1902**, Nr. 17.
[2] — Ueber das Auftreten von Agglutination bei kutaner Injektion. Hyg. Rundschau, **1903**, S. 114.
HOLTH HALFDAN, Die Agglutination und die Komplementbindungsreaktion in der Diagnose des seuchehaften Verwerfens. Berl. tierärztl. Wochenschr., **1909**.
HONL, Wien. klin. Rundschau, **1898**.
HORIUCHI, Ueber einen neuen Bacillus als Erreger eines exanthematösen Fiebers. Centralbl. f. Bakt., Bd. 46.
v. HÖSSLIN, Ueber Typhusfälle mit geringer und fehlender Agglutination und Typhus ähnliche Fälle. D. A. f. klin. Med., Bd. 91, 314, **1907**.
HUBER, E., Die Paratyphus-B-ähnlichen Bakterien des Pferdedarms. Centralbl. f. Bakt., Bd. 56, **1910**.
HUBER, F. C., Ueber Agglutination der Pneumokokken. Centralbl. f. innere Med., **1902**, Nr. 17.
[1] HÜBENER, Ueber das Vorkommen von Bakterien der Paratyphus-B-Gruppe in der Außenwelt. Deutsche med. Wochenschr., **1908**, Nr. 24.
[2] — Fleischvergiftungen und Paratyphusbacillen. Deutsche med. Wochenschr., **1910**, Nr. 2.
[3] — Fleischvergiftungen und Paratyphusinfektionen, ihre Entstehung und Verhütung. Jena **1910**.
HÜBENER & VIERECK, zit. nach HÜBENER[3].
[1] HÜHNERMANN, Bakteriologische Befunde bei einer Typhusepidemie. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 11, 522.
[2] — Ueber den Wert der Widalschen Serumreaktion bei Typhus. Deutsche milit.-ärztl. Zeitschr., **1901**.
HUME, zit. nach BRION, Paratyphus.
HUTYRA, Zur Agglutinationsprobe bei Rotz. (530 gefallene oder getötete Pferde.) Berl. tierärztl. Wochenschr., **1909**, S. 495.
ISSAEFF, Contribution à l'étude de l'immunité acquise contre le pneumocoque. Ann. Pasteur, **1893**, p. 269.

Issaeff & Ivanoff, Untersuchungen über Immunisierung etc. Zeitschr. f. Hyg., **1894**, S. 122.
Iversen. Ueber die Schwankungen des Agglutinationsvermögens. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 49, **1904**.
Jacoby, M., Reaktion zwischen Toxin und Antitoxin. Biochem. Zeitschr., Bd. 39, **1912**.
[1] Jäger, H., Die spez. Agglutination der Meningokokken als Hilfsmittel zu ihrer Artbestimmung. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 44, 240.
[2] — Ueber Agglutination der Meningokokken. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 45, **1903**.
v. Jagic, N., Ueber Herstellung von mikroskopischen Dauerpräparaten etc. Wien. klin. Wochenschr., **1910**, Nr. 6.
Jakobsthal, Ueber die trockene Konservierung agglutinierender und präzipitierender Sera. Arch. f. Hyg., Bd. 48, 207, **1904**.
v. Jaksch, Zeitschr. f. Heilk., **1905**, Heft 5; zit. nach Baumgartens Jahresber., **1905**, S. 324.
Jatta, Experimentelle Untersuchungen über die Agglutination des Typhusbacillus und der Mikroorganismen der Coligruppe. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 33, **1900**.
Jeanselme, Sporoagglutination. Sem. méd., **1910**, Nr. 26.
[1] Jehle, Zeitschr. f. Heilk., Abt. f. innere Med., **1901**.
[2] — Ueber die Agglutinationskraft und den Bakterienbefund in Föten typhuskranker Mütter. Wien. klin. Wochenschr., **1902**, Nr. 20, S. 525.
[3] — Wien. klin. Wochenschr., **1903**.
[4] — Neue Beiträge zur Bakteriologie der Ruhr. Jahrbuch f. Kinderheilk., Bd. 62.
Jehle & Charleton, Ueber epidemische Ruhr etc. Zeitschr. f. Heilk., Bd. 26.
Jemma, H., Beitrag zum Nachweis der Eberthschen Bacillen der Typhuskranken. Münch. med. Wochenschr., **1897**, Nr. 33.
Jessen, F., Ueber die Agglutination bei Lungentuberkulose. Beitr. z. Klin. d. Tuberkulose, Bd. 6, **1906**.
[1] Joachim, Zur Frage der Gruber-Widalschen Reaktion bei Ikterus. Wien. klin. Wochenschr., **1903**, S. 988.
[2] — Ueber das quantitative Verhalten der Eiweißkörper in menschlichen und tierischen Flüssigkeiten. K. k. Gesellsch. der Aerzte in Wien, 16. Mai **1902** und Wien. klin. Wochenschr., **1902**, S. 565.
Jobling, J. W., Ueber den Einfluß erhöhter Temperatur auf das Agglutinationsphänomen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 53, 554, **1906**.
Jochmann, Mischinfektion des Blutes mit Proteusbacillen und Streptokokken usw. Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 75, 27, **1905**.
Jogichess, Zur Frage der Agglutination der Streptokokken. Centralbl. f. Bakt., Bd. 36, 692, **1904**.
[1] Johnston, W., Ueber den Gebrauch von getrocknetem Blute für die Serumdiagnose. Centralbl. f. Bakt., Bd. 21, 523.
[2] — Paratyphoid fever; report of 4 cases; analysis of all reported cases. Amer. journ. of med. scienc., **1902**.
[3] — An experiment with the serum reaction etc. New York med. journ., **1897**, p. 762.
[4] — Serodiagnosis in typhoid fever. Journ. of Amer. med. assoc., Vol. 29.
Johnston & MacTaggart, On the difference between serum and blood solutions etc. Montreal med. journ., Vol. 15, **1897**.
[1] Joos, A., Untersuchungen über die verschiedenen Agglutinine des Typhusserums. Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, 785, **1903**.
[2] — Untersuchungen über die Bedeutung der Salze bei der Agglutination. Zeitschrift f. Hyg., Bd. 36, 422.
[3] — Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 36, 422 und Bd. 40, 203, **1902**.
Jörgensen, Schwankungen des Agglutinationsvermögens im Blute. Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, **1904**.
Jörgensen & Madsen, T., The fate of typhoid and cholera agglutinins during active and passive immunisation. Festskrift, edited by Salomonsen, Kopenhagen **1902**.
Jurewitsch, Ueber den vererbten und intrauterinen Uebergang der agglutinablen Eigenschaften des Blutes und die Bildung der Agglutinine im Körper der Embryonen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, 76.
[1] Jürgens, Beobachtungen über die Widalsche Reaktion und die Mitagglutination von Typhoidbacillen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 43, **1903**.
[2] — Untersuchungen über die Ruhr. Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 51, H. 5 u. 6, auch Deutsche med. Wochenschr., **1903**, Nr. 46.

KAFKA, VIKTOR, Ueber die praktische Leistungsfähigkeit verschiedener Methoden der Agglutinationstechnik. Centralbl. f. Bakt., Bd. 40, 247, **1906**.

KAMMERER, Ueber die Agglutination von Typhusbacillen bei Ikterus und Leberkrankheiten. Berl. klin. Wochenschr., **1904**, Nr. 26.

[1] KARWACKI, L., Untersuchungen über die spezifischen Eigenschaften des antituberkulösen Serums von Maragliano. Zeitschr. f. Tub., Bd. 8, **1906**.

[2] — Ueber die Schutzimpfungen gegen Cholera etc. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 54, 39, **1906**.

KARWACKI & BENNI, Ueber die quantitativen Verhältnisse bei der Agglutination der Tuberkelbacillen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 42, 252, **1906**.

KASSEL & MANN, Lehre von der Gruber-Widalschen Serumdiagnose des Typhus. Münch. med. Wochenschr., **1899**, Nr. 18.

KASTEN, F., Ueber die Bildung von spezifischen Antikörpern nach kutaner Infektion. Deutsche med. Wochenschr., **1903**, S. 637.

[1] KAYSER, H., Ueber den Paratyphus. Deutsche med. Wochenschr., **1903**, Nr. 18.

[2] — Bakteriologischer Befund bei einem weiteren Fall von Paratyphus des Brion-Kayserschen Typus A. Centralbl. f. Bakt., Bd. 40, 285, **1906**.

[3] — Ueber Vergleiche der Bildung von Antikörpern bei Menschen und Tieren (im besonderen Gruppenagglutininen). Arch. f. Hyg., Bd. 57.

[4] — Die Gruber-Widalsche Reaktion bei Mischinfektion durch Typhusbacillen und Staphylokokken. Ebenda, Bd. 48, 313, **1904**.

KEMP, Ueber Paradysenterie. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 57, 489, **1907**.

KENNEDY, J. C., Vaccine treatment of Malta fever. R. A. m. C. Journ., Vol. 15, 317, **1910**; Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3, 1035, 1910.

KENTZLER & BENCZUR, Agglutination bei Mischinfektion. Centralbl. f. Bakt., Bd. 47, 263, **1908**.

KERNER, Experim. Beitrag zur Hämolyse und zur Agglutination der Streptokokken. Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, 223, **1904**.

KESSLER, Die serodiagnostische Typhusreaktion Mandelbaums. Münch. med. Wochenschr., **1910**, S. 1546.

KIEN, Ueber die Anwendung abgetöteter Typhusbacillen etc. Deutsche med. Wochenschr., **1910**, S. 653.

KINDBORG, AMY, Die Pneumokokken. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 51, 197, **1905**.

KINGOUM, Malta fever of the Caribbian litorale. Gaceta de Caracas, 15. Juli **1898**.

KIRALYFI, Typhus und Bact. coli. Mischinfektion. Deutsche med. Wochenschrift, **1910**, S. 502.

KIRSTEIN, Ueber Beeinflussung der Agglutinierbarkeit von Bakterien, insbesondere von Typhusbacillen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 46, 229, **1908**.

KIRTON, Med. suppl. to Metrop. Asyl Boards rep., **1897**, p. 198.

[1] KLEIN, Remarks on agglutination by plaque blood. Lancet, **1901**.

[2] — The source of the germicidal element in bloodserum. Ref. Baumgartens Jahresb., Bd. 13, 359.

KLEINE, F., Ueber Rotz. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 44, 183.

KLEMENS, PAUL PETER, Ueber die praktische Leistungsfähigkeit diagnostischer Flüssigkeiten für typhoide Erkrankungen des Menschen. Berl. klin. Wochenschrift, **1905**, Nr. 40.

KLEMENS, P., & MAHLER, PH., Ueber die Agglutinationskraft menschlicher Blutsera für Arten der Typhusgattung und der Coligattung. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 58, 201, **1909**.

KLEMPERER, F., & SCHEIER, M., Ueber Identität der Ozaena- und der Rhinosklerombacillen mit den Friedländerschen Bacillen. Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 45, 133, **1902**.

[1] KLIENEBERGER, Studien über Coliagglutinine unter Berücksichtigung der klinischen Verwertung der Coliagglutination. Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 90, 267, **1907**.

[2] — Zur Kasuistik der Paracolibacillenseptikämie. Centralbl. f. Med., **1909**, Nr. 46.

[3] — Pyocyaneusinfektion der Harnwege mit hoher Agglutination für Pyocyaneus und Mitagglutination von Typhusbacillen. Münch. med. Wochenschr., **1907**, Nr. 27.

[4] — Klinische und kritische Beiträge zur Differenzierung pathogener Proteusarten. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 58, **1909**.

Klimenko, Morphologie und Biologie des Keuchhustenbacillus. Centralbl. f. Bakt., Bd. 50, Heft 3, S. 355.
Klimoff, Zur Frage der Immunstoffe des Organismus. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37.
Klinger, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 24, **1906**.
Klinger, P., Beitrag zum v. Drigalski-Conradischen Verfahren des Typhusbacillennachweises und zur Identifizierung typhusverdächtiger Bacillen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, 542.
Kneass, zit. bei Guerard.
Klopstock & Bockenheimer, Beitrag zur Agglutination der Staphylokokken. Arch. f. klin. Chir., Bd. 77, 325, **1904**.
Koch, Robert, Ueber Agglutination von Tuberkelbacillen und über die Verwertung dieser Agglutination. Deutsche med. Wochenschr., **1901**.
Koch & Petruschky, Beobachtungen über Erysipelimpfung am Menschen. Zeitschrift f. Hyg., Bd. 23, **1896**.
Koelzer, Weitere Beobachtungen über die Widalsche Reaktion bei Typhus abdominalis. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 36, **1901**.
Koeppen, A., Tuberkulosestudien. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52, 111, **1906**.
[1] Köhler, Zur Kritik des Agglutinationsphänomens. Centralbl. f. Bakt., Bd. 29, S. 683.
[2] — Das Agglutinationsphänomen. Klin. Jahrb., Bd. 8, 39, **1901**.
[3] — Die Widalsche Reaktion bei Gelbsucht. Münch. med. Wochenschr., **1903**, Nr. 32.
Köhler & Scheffler, Die Agglutination von Fäkalbakterien bei Typhus abdominalis durch das Blutserum. Münch. med. Wochenschr., **1900**, Nr. 22.
Kölisch, Ueber die angebliche Aenderung der Agglutinabilität der Choleravibrionen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 55, 156, **1910**.
[1] Kolle, Serodiagn. des Typh. abd. Deutsche med. Wochenschr., **1897**, Nr. 9.
[2] — Ueber den derm. Stand d. Choleradiagn. Klin. Jahrb., Bd. 11.
[3] — 1. Band dieses Handbuches.
Kolle & Hetsch, Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten. Lehrbuch, **1911**.
Kolle & Otto, Die Differenzierung der Staphylokokken mittels der Agglutination. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 41, 369, **1902**.
Kolle & Gotschlich, Untersuchungen über die bakteriologische Choleradiagnostik usw. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 44, **1903**.
Kolle & Martini, Deutsche med. Wochenschr., **1902**, Nr. 1—4.
Kolle & Strong, Ueber Schutzimpfung des Menschen mit lebenden abgeschwächten Pestkulturen (Pestvaccination). Deutsche med. Wochenschr., **1906**, S. 413.
Kolle & Wassermann, Untersuchungen über Meningokokken. Klin. Jahrb., Bd. 15, 507, **1906**.
Konew, Rotzdiagnose durch Präzipitation. Ref. Zeitschr. f. Immunitätsf., Ref., Bd. 2, 247, **1910**.
Königstein, R., Ueber die agglutinierenden Eigenschaften der Galle und des Serums beim Ikterus. Wien. klin. Wochenschr., **1903**, S. 985.
Konrad, Experimentelle Beiträge zur Hämolyse und zur Agglutination von Streptokokken. Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, **1904**.
[1] Konrich, Ueber den Einfluß von Wärme und Zeit auf den Ablauf der Agglutination. Centralbl. f. Bakt., Bd. 48, 92, **1908**.
[2] — Eine Paratyphusepidemie in einem Krankenhaus. Klin. Jahrb., Bd. 19, H. 3.
[3] — Untersuchungen über die Agglutination der Micrococcus melitensis. Zeitschrift f. Hyg., Bd. 46, 261.
Koop, A., Ueber die Agglutinationsfestigkeit des Blutserums von Cholera etc. Ref. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., **1910**.
Korentschewski, Zur Frage der mandschurischen Dysenterie. Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 37.
Korte, Ein Beitrag zur Kenntnis des Paratyphus. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 44, **1903**.
Korte & Steinberg, Ueber die agglutinierende Wirkung des Serums von Typhuskranken auf Paratyphusbacillen nebst Bemerkungen über makroskopische und mikroskopische Serodiagnostik. Münch. med. Wochenschr., **1905**, Nr. 21.
Kossel, Deutsche med. Wochenschr., **1894**; Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 25.
Kossel & Overbeck, Bakteriologische Untersuchungen über Pest. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 18, 113.

Krägel, Ueber die Ruhragglutinine etc. Centralbl. f. Bakt., Bd. 58, 48, **1911**.
[1] Kraus, R., Ueber Fadenbildung. Wien. klin. Wochenschr., **1899**, Nr. 2.
[2] — Ueber spezifische Niederschläge. Ebenda, **1897**, Nr. 31.
[3] — Ueber spezifische Reaktionen in keimfreien Filtraten aus Cholera-, Typhus- und Pestbouillonkulturen, erzeugt durch homologes Serum, k. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien, 30. April 1897. Wien. klin. Wochenschr.,
[4] — Ueber Ausscheidung von Antikörpern in der Milch. K. k. Gesellsch. der **1897**, S. 431 und 736.
[5] — Ueber Antikörper in der Milch. Centralbl. f. Bakt., Bd. 21, 592, **1897**. Aerzte in Wien, 4. XII. **1896**; Wien. klin. Wochenschr., **1896**, 16. XII.
[6] — Achas y memorias del IX. Congr. intern. de hyg. y demogr. es Madrid, Vol. 1, 127.
[7] — Ueber ein akut wirkendes Bakteriohämolysin. Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, 488, **1903**.
[8] — Ueber Gifte des Choleravibrio und verwandter Vibrionen. Wien. klin. Wochenschr., **1906**, Nr. 22.
[9] — Zur Theorie der Agglutination. Zeitschr. f. Heilk., Bd. 23, **1902**.
[10] — Ueber diagnostische Verwertbarkeit spezifischer Niederschläge. Wien. klin. Wochenschr., **1901**, Nr. 21.
Kraus & Donath, Ref. Paltauf in Baumgartens Jahrbuch, **1897**, S. 636.
Kraus & Eisenberg, Ueber Immunisierung mit Immunsubstanzen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 31, 208, **1902**.
Kraus, R., Hammerschmidt, J., & Zeki, Weitere Studien über Choleravibrionen. Ueber das Verhalten der aus der Epidemie in Arabien 1908 stammenden Choleravibrionen bei der Agglutination mit niederwertigem Serum. Centralbl. f. Bakt., Bd. 61, **1911**.
[1] Kraus & Joachim, Ueber Beziehungen der präzipitinogenen Substanz zur agglutinogenen der Bakterien. Centralbl. f. Bakt., Bd. 36 u. 37, S. 662 u. 73, **1904**.
[2] — — Zur Frage der passiven Immunisierung. Wien. klin. Wochenschr., **1903**, Nr. 50.
Kraus, R., & Löw, L., Ueber Agglutination. K. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien, 27. I. 1899. Wien. klin. Wochenschr., **1899**, Nr. 5.
Kraus, R., & Müller, Fr., Zur Frage der Blutplattenmethode, Agglutinabilität und Giftbildung frischer Choleravibrionen. Wien. klin. Wochenschr., **1910**, Nr. 44.
Kraus & v. Pirquet, Weitere Untersuchungen über spezifische Niederschläge. Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, 60.
Kraus, R., & Prantschoff, Ueber Choleravibrionen und andere Vibrionen. Wien. klin. Wochenschr., **1906**, Nr. 11.
Kraus & Pribram, Ueber Beziehungen des Immunkörpers zur präzipitinogenen Substanz des Blutserums. Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, 72, **1905**.
Kraus, R., & Seng, Mechanismus der Agglutination. Wien. klin. Wochenschr., **1899**, Nr. 1.
Krause, P., Beitrag zur Kenntnis der Dauer der Widalschen Reaktion etc. Centralbl. f. Bakt., Bd. 36, 121, **1904**.
Krause & Sterz, Beitrag zur Typhusdiagnose aus dem Stuhle mittels des v. Drigalski-Conradischen Verfahrens. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 44, 469.
Kreissl, Klinische Erfahrungen über die Gruber-Widalsche Reaktion. Wien. klin. Wochenschr., **1904**, Nr. 5 und Kraus-Levaditi, Technik und Methodik der klinischen Serodiagnostik mittels Agglutination.
[1] Kretz, R., Ein Fall von Maltafieber durch Agglutination des Micrococcus melitensis nachträglich diagnostiziert. Wien. klin. Wochenschr., **1896**, Nr. 49.
[2] — Beitrag zur Kenntnis der Agglutination der Bakterien. Jahrb. der k. k. Wiener Krankenanstalten, Bd. 6.
Kreucker, Typhusagglutination bei Tuberkulose. Münch. med. Wochenschr., **1909**, S. 1016.
Kruse, Weitere Untersuchungen über die Ruhr und Ruhrbacillen. Deutsche med. Wochenschr., Nr. 23—24.
Kruse, Rittershaus, Kemp & Metz, Dysenterie und Pseudodysenterie. Zeitschrift f. Hyg., Bd. 57, 417, **1907**.
Kruse, Walter, & Pansini, Sergio, Untersuchungen über den Diplococcus pneumoniae und verwandte Streptokokken. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 11.
[1] Kuhn, Gildemeister & Woithe, Ueber bakteriologische Beobachtungen bei Irrenruhr, insbesondere über die Erscheinung der Paragglutination. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amte, Bd. 31, 394, **1911**.
[2] — Nachtrag zu obiger Arbeit. Ebenda, Bd. 31, H. 3, **1911**.

[1] Kuhn, Ph., & Woithe, Ueber Paragglutination. Deutsche militärärztl. Zeitschr., 1909. Med. Klinik, **1909**. Das Verhalten der Darmbakterien hinsichtlich der Agglutination. 81. Vers. deutscher Naturf., Salzburg **1909**.
[2] — — Zur Technik der Agglutination. Med. Klinik, **1909**, S. 1631.

Kühnau, Ueber die Bedeutung der Serodiagnostik beim Abdominaltyphus. Berl. klin. Wochenschr., **1897**, Nr. 19.

Kühnemann, Ueber Veränderungen der Geißeln bei der Agglutination. Centralbl. f. Bakt., Bd. 54, 355, **1910**.

Kurajeff, Hofmeisters Beiträge, Bd. 1 und 2.

Kurth, Eine typhusähnliche durch einen bisher nicht beschriebenen Bacillus (Bac. bremensis febr. gastr.) bedingte Erkrankung. Deutsche med. Wochenschrift, **1901**, Nr. 30 und 31.

Küster, E., Jahresbericht über die Tätigkeit des Untersuchungsamtes etc. Freiburg i. B., **1908**, **1909**. Hyg. Rundsch., Bd. 18, 385; Bd. 19, 457, **1909**.

Kutscher, Fr., Zur Kenntnis der ersten Verdauungsprodukte des Eiweißes. Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 23.

Kutscher, K. H., Eine Fleischvergiftungsepidemie in Berlin durch Bact. paratyph. B. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 55, 331, **1906**.

Kutscher & Meinicke, Vergleichende Untersuchungen über Paratyphus-, Enteritis- und Mäusetyphusbakterien und ihre immunisatorischen Beziehungen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52, **1906**.

Lafforgue, Quelques remarques à propos d'un bac. alcaligène etc. Compt. rend. soc. Biol., T. 65, 108, **1908**.

Lagriffoul, A., Arnal & Roger, H., Fièvre de Malta et Dothi entérie. Compt. rend. soc. Biol., T. 68, 237, **1910**.

Lagriffoul & Roger, Sur la persistance de la réaction agglutinante dans la fièvre de Malta. Compt. rend. soc. Biol., **1910**.

Lamb & Kesava, Mediterranean fever in India. Scient. mem. of the Governm. of India, **1906**, Nr. 22.

Lambotte & Bossart, Recherches sur des substances chimiques agglutinantes. Bull. acad. roy. de méd. de Belgique, **1897**, Nr. 8.

Lambotte & Maréchal, L'agglutination du bac. charbonneux par le sang humain normal. Ann. Past., T. 13, 637, **1899**.

Landouzy & Griffon, Transmission par l'allaitement du pouvoir agglutinant etc. Compt. rend. soc. Biol., **1897**, p. 950.

[1] Landsteiner, Zur Kenntnis der spezifisch auf Blutkörperchen wirkenden Sera. Centralbl. f. Bakt., Bd. 25, 546.
[2] — Ueber Einverleibung sterilisierter Bakterienkulturen. Wien. klin. Wochenschrift, **1897**, S. 439.

Landsteiner, K., & v. Eisler, M., Ueber Agglutinin- und Lysinwirkung. Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, 309, **1905**.

[1] Landsteiner & v. Jagič, Ueber Analogien der Wirkungen kolloidaler Kieselsäure mit den Reaktionen der Immunkörper und verwandter Stoffe. Wien. klin. Wochenschr., **1904**, Nr. 3.
[2] — — Ueber Reaktionen anorganischer Kolloide und Immunkörperreaktionen. Münch. med. Wochenschr., **1904**, Nr. 27.
[3] — — Ueber die Verbindungen und die Entstehung von Immunkörpern. Münch. med. Wochenschr., **1905**, S. 764.

[1] Landsteiner, K., & Reich, M., Ueber die Verbindungen der Immunkörper. Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, 83, **1905**.
[2] — Ueber Unterschiede zwischen normalen und durch Immunisierung entstandenen Stoffen des Blutserums. Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, 712, **1905**.
[3] — — Ueber den Immunisierungsprozeß. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 58, 213, **1908**.

Landsteiner & Prašek, Ueber die Beziehungen der Antikörper zu der präzipitablen Substanz des Serums. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 10, 68, **1911**.

Landsteiner & Stankovic, Ueber die Adsorption von Eiweißkörpern etc. Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, 108, **1906**.

[1] Landsteiner, K., & Welecki, St., Ueber den Einfluß konzentrierter Lösungen von Salzen und Nichtelektrolyten auf die Agglutination und Agglutininbindung. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 8, Heft 3, **1910**.
[2] — — Einfluß konzentrierter Lösung von Salzen und Nichtelektrolyten etc. Zeitschrift f. Immunitätsforsch., Bd. 8, 397, **1910**.

LANGKAU, Bac. paratyph., Bac. suipestifer und Bac. enteritidis im Vergleich zu den Erregern der Kälberruhr. Inaug.-Diss. Leipzig, **1909**.
LANGSTEIN & MEERWEIN, Gruber-Widalsche Serumreaktion bei Ikterus. Wien. klin. Wochenschr., **1903**, S. 787.
LANNELONGUE & ACHARD, Compt. rend. l'acad. sc., 5. X. **1896**.
[1] LAUBENHEIMER, Experimentelle Beiträge zur Veränderlichkeit der Agglutination bei Typhus abdominalis. Inaug.-Diss. Gießen **1903**.
[2] — Der Dieudonnésche Blutalkaliagar etc. Centralbl. f. Bakt., Bd. 52, 294, **1909**.
LAUDIS, Agglutination studies in tuberculosis. Journ. med. research, Vol. 18.
LEBRAM, Zur Agglutination von Typhusbacillen durch spezifisches Gärtnerserum. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 64, **1909**.
LECLAINCHE, E., & VALLÉE, H., Ann. Pasteur, **1900**, août et septembre, p. 531 et 595.
LEDINGHAM, J. G., The phagocytosis of so-called neutral substances. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 119, **1909**.
LEDOUX-LEBARD, De l'action du sérum pseudotuberculeux sur le bacille de la pseudotuberculose. Ann. Pasteur, T. 11, 909, **1897**.
LEDUC, S., Interprétation des phénomènes de karyokinèse et d'agglutination. Compt. rend. acad. sc., T. 134, 2104.
v. LELIWA & SCHUSTER, Bericht über die Untersuchungstätigkeit des Hygienischen Instituts in Posen 1908. Hyg. Rundschau, **1909**, Nr. 17.
[1] LENTZ, O., Beiträge zur Differentialdiagnose des Paratyphus. Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, Beiheft S. 63.
[2] — Dysenterie. Handbuch KOLLE-WASSERMANN, 1. Erg.-Bd., **1909**.
[3] — Weitere Beiträge zur Differenzierung des Shigaschen und des Flexnerschen Bacillus. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 43, 480.
[4] — Ber. d. Tag. d. Mikrobiol., **1910**, S. 80, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 47.
LESAGE, Serumdiagnose der Kinderdiarrhöen. Compt. rend. soc. Biol., 16. X. **1897**.
LESIEUR, CH., Rapports entre l'agglutinabilité et la mobilité des bacilles d'Eberth. Journ. de phys. et path. gén., T. 5, 539, **1903**.
LEUCHS, Ueber die diagnostische Zuverlässigkeit und die Spezifizität der Komplementbindungsmethode bei Typhus und Paratyphus. Berl. klin. Wochenschr., **1907**.
LEVADITI, L'action des sels sur l'organisme au point du vue de la génèse des propriétés agglutinatives. Compt. rend. soc. Biol., **1899**, p. 757.
LEVIERATO & CROSSONINI, Untersuchungen über die Tuberkelbacillenexsudate etc. Centralbl. f. Bakt., Bd. 58, 139, **1911**.
LEVY, Ein Beitrag zur Immunisierung m. Typhusbacillen und Typhusimmunität. Wien. klin. Wochenschr., **1897**, Nr. 33.
LEVY, E., & BRUNS, H., Beiträge zur Lehre der Agglutination. Berl. klin. Wochenschr., **1897**, Nr. 23.
LEVY & GAEHTGENS, Ueber Beziehungen des Paratyphus zum Typhus. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 25.
LEVY, J., & GISELER, Untersuchungen über Typhusserum. Münch. med. Wochenschrift, **1897**, Nr. 50 und 51, S. 1435, 1474.
LEWIN, E., Coli agglutinins and their course of formation. Arb. a. d. Inst. f. experim. Ther., **1908**.
LEWY, Wien. klin. Wochenschr., **1897**, Nr. 32.
LIBMANN, Paracolon infection. Journ. of med. res., Vol. 8, Nr. 1.
LIEFMANN, Fleischvergiftung und Widalsche Reaktion. Münch. med. Wochenschrift, **1908**, Nr. 4.
LIEFMANN & NIETER, Ueber Ruhr bei Irren. Münch. med. Wochenschr., Ref., Bd. 37.
LINDER & PICTON, E., Journ. chem. soc., Vol. 61, **1892**, s. PICTON.
LION, Die Methoden zur Ausführung der Gruber-Widalschen Reaktion. Münch. med. Wochenschr., **1904**, Nr. 21, S. 908.
LIPSCHÜTZ, Ueber die bakteriol. Diagnose des Typhus abdom. mit Hilfe des v. Drigalski-Conradischen Nährbodens und der Agglutination. Centralbl. f. Bakt., Bd. 35, 798, **1904**.
LIPSTEIN, Ueber Immunisierung mit Diphtheriebacillen. Deutsche med. Wochenschrift, **1902**.
[1] LOEB, M., Ueber den Mechanismus der Agglutination. Zeitschr. f. Chem. u. Industrie der Kolloide, Bd. 3, 113, **1908**.

[2] Loeb, M., The serum diagnosis of tuberculosis. Transact. of the path. soc. Chicago, 1902.

[1] Loele, Die Agglutination in den Händen des praktischen Arztes. Deutsche med. Wochenschr., 1906, Nr. 4.

[2] — Ueber das Verhalten von Blutserum nicht an Typhus verstorbener Personen gegenüber der Widalschen Reaktion. Centralbl. f. Bakt., Bd. 49, 629, 1909.

Löffler, Immunisierungsprozeß, in v. Leutholds Gedenkschrift, Bd. 1, 247.

[1] van Loghem, J. J., Ueber kennings vor schynselen by agglutine toeproeven. Ned. Tijdschr. f. Geneesk., 1908, Nr. 1.

[2] — Agglutinations- und Komplementablenkungsversuche mit Typhusimmunsera. Ein Beitrag zur Frage der Agglutinationshemmung und zur Kenntnis des Typhusdiagnostikum nach Ficker. Centralbl. f. Bakt., Bd. 45, 539, 1908.

[3] — Widerspruch zwischen den Resultaten der Bacillenzüchtung und der Widalschen Reaktion etc. Centralbl. f. Bakt., Bd. 44.

Lommel, Eine Fehldiagnose auf Grund der Gruber-Widalschen Reaktion. Münch. med. Wochenschr., 1902, Nr. 8.

[1] Löw, O., Zur Theorie der Agglutination. Münch. med. Wochenschr., 1899, Nr. 47.

[2] — Ueber Agglutination d. Bakt. Centralbl. f. Bakt., Bd. 29, 681, 1900.

Löwit, Ueber Niederschlagsbildung bei der Agglutination. Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, 156, 251, 1903.

Löwit & Schwarz, Ueber Bakterizidie und Agglutination im Normalblute. Zeitschrift f. Heilk., Bd. 24, Heft 8, 1903.

Lubowski, Ueber einen atoxischen und avirulenten Diphtheriest. Zeitschr. f. Hyg., 1900, Nr. 35.

Lubowsky & Steinberg, Ueber Agglutination der Typhusbacillen bei Proteus- und Staphylokokkeninfektion. Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 69, 1904.

[1] Lüdke, Agglutination bei Autointoxikationen etc. Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 81, 1904.

[2] — Ueber die Bedeutung der Temperatursteigerung für die Antikörperproduktion. Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 95, 424.

[3] — Centralbl. f. Bakt., Bd. 40, S. 69, 290, 439, 1906 und Deutsche med. Wochenschr., 1906.

MacFadyen, Royal veterinary College, 1896.

[1] MacFarland Landram, Observations on the effect of the sight of injection upon the production of agglutinin. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, 451, 1911.

[2] — Same observations upon the comparable phases etc. Ebenda, Bd. 12, 323, 1912.

MacGrae, Agglutination obtained by intraperitoneal insertion of celloidin capsules. Journ. of exp. med., Vol. 5.

MacGregor, Immunity phenomena in cerebrospinal meningitis. Journ. of path. and bact., Vol. 14, 503, 1910.

Mac Naught, A note about two cases of paratyphoid fever etc. Journ. of the Roy. Army med. Corps, Vol. 10, 1908.

Mahrt, Ueber den Uebergang der Typhusagglutinine von der Mutter auf das Kind. Centralbl. f. Stoffwechsel- und Verdauungskrankh., Bd. 2, Heft 1, 1901.

[1] Malvoz, Etudes sur l'agglut. Ann. Pasteur, T. 11, 1897.

[2] — Sur la présence d'agglutinines spécifiques dans les cultures microbiennes. Ann. Pasteur, T. 13, 630, 1899.

Mamlok, Leontine, Beiträge zur Frage der Normalagglutinine. Arch. f. Hyg., Hyg., Bd. 68, S. 95.

[1] Mandelbaum, Eine einfache Methode zur Typhusdiagnose. Münch. med. Wochenschr., 1910, S. 178.

[2] — Zur Typhusdiagnose nach meiner Methode. Ebenda, 1910, S. 855.

Mann, Beiträge zur Frage der spezifischen Wirkung der Immunsera. Arch. f. Hyg., Bd. 34, 1899.

Materazzi, Differentialdiagnose, klinische und bakteriologische, zwischen Typhus und Paratyphus. Gaz. degli osped., 1907. Ref. Münch. med. Wochenschr., 1907, S. 1794.

[1] Manteufel, Erfahrungen mit der Gruber-Widalschen Reaktion bei Berücksichtigung der Mitagglutination von Paratyphusbacillen. Münch. med. Wochenschr., 1905, Nr. 52, S. 1329.

[2] MANTEUFEL, Untersuchungen über spezifische Agglomeration und Komplementbindung bei Trypanosomen und Spirochäten. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 28.
MARBE, La filtration de l'agglutinine typhique etc. Compt. rend. soc. Biol., T. 67, Nr. 37, **1909**.
MARCHETTI & STEFANELLI, Sulla seroreazione tubercolare. Rev. crit. clin. med., **1903**. Ref. Centralbl. f. Bakt., **1903**, S. 732.
MARKL, Zur Agglutination des Pestbacillus. Centralbl. f. Bakt., Bd. 29, 810, **1901**.
MARKOFF, Vergleichende Studien über Rauschbrand. Centralbl. f. Bakt., Bd. 60, 188, **1911**.
[1] MARKS, LEWIS HART, Zur Technik der Widalschen Reaktion. Arb. a. d. Inst. f. experim. Ther., **1908**, Heft 4.
[2] — Ueber einen arsenfesten Bakterienstamm. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, 293, **1910**.
[1] MARMANN, Bericht über die Tätigkeit des bakteriologischen Untersuchungsamtes Göttingen. Hyg. Rundschau, **1906**, Nr. 17.
[2] — Bericht über die Tätigkeit etc. Göttingen 1907/8. Hyg. Rundschau, Bd. 18, 1013, **1908**.
MARMOREK, L'unité des stréptocoques pathogènes pour l'homme. Ann. Pasteur, T. 16, **1902**.
MAROTTE, Un nouveau cas de fièvre typhoide etc. Progrés méd., **1909**.
MARTIN, PREVOT, LOISEAU, Sur le pouvoir agglutinant du sérum antidiphthérique. Soc. de Biol., T. 68, **1910**.
[1] MARTINI, Beschleunigung und Sicherung der Pestdiagnose etc. Zeitschr. f. Hyg., **1902**.
[2] — Pestbacillus und Pestserum. Berl. klin. Wochenschr., **1903**.
MARTINI & LENTZ, Ueber die Differenzierung der Ruhrbacillen mittels der Agglutination. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 41, 540.
MARTINECK, Ein für die Praxis geeignetes Besteck zur Anstellung der Gruber-Widlaschen Reaktion mit dem Fickerschen Typhusdiagnostikum. Münch. med. Wochenschr., **1905**, S. 701.
MARX, Ueber eine Paratyphusepidemie. Centralbl. f. Bakt., Bd. 48, S. 34.
MARZAGALLI, Sopra un nuovo metodo per la sierodiagnosi della tuberculosi. Ann. Inst. Maragliano. Ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 37, **1906**.
[1] MASSI, U., Di un semplice metodo di diagnosi del tifo (Mandelbaum). Corriere Sanitario, Vol. 21, Nr. 12, p. 185.
[2] — zit. nach Weichardts Jahresbericht, Bd. 6, **1910**.
MASIN, zit. nach VAN DE VELDE.
MAYER, M., Ueber die Schüttelextrakte bei lebenden Bakterien nach Brieger & Meyer. Zeitschr. f. exp. Path., Bd. 6, 716, **1909**.
MAYER, O., Ueber die Bewertung des Befundes von Paratyphusbacillen etc. Klin. Jahrb., Bd. 21, **1909**.
MEGELE, Widalsche Serumreaktion bei Leberabszeß. Münch. med. Wochenschr., **1903**, S. 598.
MEINICKE, JAFFÉ & FLEMMING, J., Ueber die Bindungsverhältnisse der Choleravibrionen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52, **1906**.
MEINICKE & NEUHAUS, Zur Frage der Paracolibacillen. Med. Klinik, **1909**, S. 212.
MELNIKOWA & WERSILOWA, Ueber den Einfluß von Blutgiften auf die Agglutination. Russky Wratsch, **1909**; Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Ref., **1909**, S. 942.
MEMMI, G., Sieroreazione di Gruber-Widal eseguita con i bacilli di Eberth morti. Ref. in Baumgartens Jahresber., **1906**, S. 342.
MENETRIER, Fièvre typhoide compliquée de pleurésie. B. et m. de la soc. méd. des hôp., **1896**, p. 850.
MERTENS, Beitrag zur Immunitätsfrage. Deutsche med. Wochenschr., **1901**, S. 381.
MESNIL, F., Action du sérum préventif contre le rouget des porcs. Ann. Pasteur, T. 12, Nr. 8, **1898**.
MESNIL DE ROCHEMOND, Ueber die Gruber-Widalsche Serodiagnostik bei Typhus abdominalis. Münch. med. Wochenschr., **1897**, Nr. 3, S. 7 und 10.
[1] METSCHNIKOFF, Etude sur l'immunité, IV. Mémoire. Ann. Pasteur, **1891**, p. 473 et 474.
[2] — Mémoire sur la pneumoentérite des porcs. Ann. Pasteur, **1892**, p. 296.
[3] — L'immunité dans les maladies infectieuses. Paris **1901**; Deutsche Uebersetzung Jena **1902**.

Mewius, Die Widalsche Reaktion in ihrer Bedeutung für die Bekämpfung des Abdominaltyphus. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 32, **1899**.
Meyer, E., Untersuchungen über die Agglutination von Bacillus coli. Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 64.
[1] Meyer, J., Die Agglutination der Streptokokken. Deutsche med. Wochenschr., **1902**. — Zur Einheit der Streptokokken. Berl. klin. Wochenschr., **1902**.
[2] — Ueber das Fickersche Typhusdiagnostikum. Berl. klin. Wochenschr., **1904**, Nr. 7.
Meyerhoff, M., Zur Typhusdiagnose mittels des Typhusdiagnostikums von Ficker. Berl. klin. Wochenschr., **1906**, Nr. 6, S. 161.
Meyers, Ueber Immunität gegen Proteide. Centralbl. f. Bakt., Bd. 28, 237, **1900**.
Michaelis, Die Säureagglutination von Typhusbacillen. Deutsche med. Wochenschrift, **1911**, S. 969.
[1] Michaelis, Ueber den Mechanismus der Agglutination. Zeitschr. f. Chem. u. Industrie d. Kolloide, Bd. 4, 55, **1909**.
[2] — Physikalische Chemie der Kolloide in Korányi-Richters Handb., Bd. 2, **1908**.
Michaelis & Davidsohn, H., Flockungsoptimum von Kolloidgemischen. Biochem. Zeitschr., Bd. 39, 496, **1912**.
Miessner, Versuche über den Einfluß des Malleins etc. Arch. f. prakt. Wissenschaft d. Tierheilk., Bd. 34, 539, **1908**.
Miller, F. C., Concerning so called agglutinoids. Journ. of infect. diseases, Vol. 6, 361, **1909**.
Mills, De la méthode de Widal de sérodiagnostic de la fièvre typhoide. Kongr. zu Moskau, 1897. Münch. med. Wochenschr., **1897**, Nr. 37.
Milton, Grendiropoulo, & Miss B. Sheldon Arnos, On agglutination of vibrions. Journ. of path. and bact., Vol. 9, 260, **1904**.
[1] Minelli, Agglutinierbarkeit von Fickerschen Paratyphusdiagnostica. Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, 583, **1906**.
[2] — Ueber „Typhusbacillenträger etc.“ Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, **1906**.
Möller, A., & Kayserling, A., Ueber die diagnostische und therapeutische Verwendung des Tuberkulins. Zeitschr. f. Tuberkulose, Bd. 3, Heft 4, S. 279, **1902**.
[1] Mongour & Buard, Note sur le sérodiagnostic de la tuberculose. Compt. rend. soc. Biol., **1898**, p. 1142.
[2] — — Note sur le sérodiagnostic de la tuberculose pulmonaire. Ebenda, **1899**, p. 656.
[3] — — Sur la séroréaction tuberculeuse. Journ. de physiol. et de path. gén., T. 2, Nr. 5, **1900**.
Montagne & Heanley, Agglutination and sedimentation in human glanders. Lancet, **1904**, p. 364.
Moon, An attemps to modify the agglutinability of the typhus bacillus. Journ. of infect. dis., Vol. 8, Nr. 4, **1911**.
Moore & Taylor, The agglutination method of diagnosis in the control of glanders. Journ. of inf. dis., Suppl. 3, **1907**, p. 85.
Moreschi, Beschleunigung der Agglutination durch Antieiweißsera. Weichhardts Jahresber., **1907**, S. 389.
Morgenroth, J., & Levy, Richard, Chemotherapie der Pneumokokkeninfektion. Berl. klin. Wochenschr., **1911**, Nr. 34.
Mörner, Percaglobulin, ein charakteristischer Eiweißkörper etc. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 40.
Moser & v. Pirquet, Agglutination der Scharlachstreptokokken durch das menschliche Serum und: Zur Agglutination der Streptokokken. Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, 560, **1903**.
Mosse & Daunic, Séroréaction chez l'enfant d'une femme atteinte de dothiénterie. Compt. rend. soc. Biol., **1897**, p. 238.
Mosse & Taylor, The agglutination method of diagnosis of glanders. Journ. of inf. dis., **1907**, Suppl., p. 85.
Muir & Martin, On the deviation of complement by a serum and its antiserum etc. Journ. of hyg., Vol. 6, **1906**.
Mühlens, Dahm & Fürst, Untersuchungen über Bakterien der Enteritisgruppe usw. Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 48, Heft 1.
Müller, Ed., Ueber Wechselbeziehungen in der Agglutination zwischen Bacillus coli und Typhusbacillus. Centralbl. f. Bakt., Bd. 55, **1910**.
Müller, F., Beiträge zur Toxikologie des Ricins. Arch. f. exp. Path. u. Pharmak., Bd. 42, 302, **1899**.

MÜLLER, G., Ueber Agglutinine normaler Tiersera. Inaug.-Diss. Bern **1901**.
[1] MÜLLER, M., Beiträge zur Agglutinationstechnik beim Rotz. Berl. tierärztl. Wochenschr., **1908**, Nr. 4.
[2] — Verwendbarkeit der Präzipitinreaktion zur Rotzdiagnose etc. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3, 401, **1909**.
[1] MÜLLER, P. TH., Ueber Immunisierung der Typhusbakterien gegen spezifische Agglutinine. Münch. med. Wochenschr., **1903**.
[2] — Ueber den Einfluß des Stoffwechsels auf die Produktion der Antikörper. Wien. klin. Wochenschr., **1904**, S. 300.
[3] — Zur Lehre von den bakteriziden und agglutinierenden Eigenschaften des Pyocyaneus-Immunserums. Centralbl. f. Bakt., Bd. 28, 577, **1900**.
[4] — Ueber den bakteriologischen Befund bei einer Dysenterieepidemie in Südsteiermark. Centralbl. f. Bakt., Bd. 31, 558, **1902**.
[5] — Zur Theorie der antibakteriellen Immunität. Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, **1903**.
[6] — Aviditätsstudien an Hämolysinen und Agglutininen. Arch. f. Hyg., Bd. 69, **1908**.
[7] — Weitere Affinitätsstudien an Agglutininen. II. Mitteilung. Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 46, 248, **1908**.
[8] — Weitere Aviditätsstudien an Agglutininen. III.—VII. Mitteilung. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3, 217, **1909**.
[9] — Weitere Aviditätsstudien an Agglutininen. VII.—IX. Mitteilung. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 7, 287, **1910**.
[10] — Bemerkungen zur Arbeit Dennemark „Die Gruber-Widalsche Reaktion bei klinisch Gesunden usw." Centralbl. f. Bakt., Bd. 55, 334, **1910**.
[11] — Ueber Avidität und Aviditätsbestimmung bei Antigenen und Antikörpern. Handb. d. Immunitätsforsch., **1910**, S. 1.
[12] — Ueber die Chloroformlöslichkeit von Typhusantigen bei Gegenwart von Lecithin. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 5, 587, **1910**.
MÜLLER, Cholecystitis und Cholangitis typhosa. Zeitschr. f. Heilk., Bd. 26, **1905**.
MÜLLER, GAEHTGENS & AOKI, Vergleichende Untersuchungen zur Auswertung der diagnostischen Methoden bei Rotz. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 8, 626, **1911**.
MÜLLER & OPPENHEIM, Ueber den Nachweis von Antikörpern im Serum eines an Arthritis gonorrhoica Erkrankten mittels Komplementablenkung. Wien. klin. Wochenschr., **1906**, Nr. 29.
MÜLLER, REINER, Mutation bei Typhus. Centralbl. f. Bakt., Bd. 58, 97, **1911**.
MUSSER, JOHN H., A clinical study of Widals serum diagnosis. Journ. of med. assoc., Vol. 29, 309, **1897**.
MUSSER & SAILLER, A case of Malta fever. Phil. med. journ., **1898**, p. 1408.
MYERS, Immunität gegen Proteide. Centralbl. f. Bakt., Bd. 28, 239.
NAEGELI, Typhusepidemie in Oberlippen. Correspondenzbl. f. Schweiz. Aerzte, **1899**, S. 547.
NEGRE, Sur l'agglutination du Micrococcus melitensis. Compt. rend. soc. Biol., T. 69, Nr. 37, **1910**.
NEGRE & RAYMOND, Sur l'agglutination des microbes immobiles par les sérums normaux. Ann. Pasteur, T. 25, 619, **1911**.
NEISSER, Wissensch. Verein der Aerzte z. Stettin, Vortr.; ref. in Berl. klin. Wochenschr., **1904**, S. 821.
[1] NEISSER & FRIEDEMANN, Studien über Ausflockungserscheinungen. Münch. med. Wochenschr., **1904**, Nr. 11.
[2] — — Studien über Ausflockungserscheinungen. II. Beziehungen zur Bakterienagglutination. Münch. med. Wochenschr., **1904**, Nr. 19.
NEISSER & LUBOWSKY, Läßt sich durch Einspritzung agglutinierter Typhusbacillen eine Agglutininproduktion hervorrufen? Centralbl. f. Bakt., Bd. 30, 483, **1901**.
NEISSER & SHIGA, Ueber freie Rezept. von Typhus- und Dysenteriebacillen etc. Deutsche med. Wochenschr., **1903**, Nr. 4.
NETTER & DEBRÉ, Compt. rend. soc. Biol., T. 67, 252, **1909**.
[1] NEUFELD, Ueber die Agglutination der Pneumokokken. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, S. 54.
[2] — Ueber Immunität und Agglutination der Streptokokken. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 44, **1903**.
[3] — Treten im menschlichen Blute nach überstandenen Streptokokkenkrankheiten Antikörper auf? Deutsche med. Wochenschr., **1897**.

[4] Neufeld, Beobachtungen über die Auflösung von Cholerabacillen etc. Zeitschr. f. exp. Path., Bd. 6, 729, **1909**.

[5] — Ueber Tuberkulosepräzipitine. Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk., Bd. 36, Supplh., S. 397, **1910**.

Neumann, O., Bericht über die Ergebnisse des Untersuchungsamtes etc. Heidelberg 1908. Hyg. Rundschau, Bd. 19, 377, **1909**.

Neumann, R., Beitrag zur Frage der pestähnlichen rattenpathogenen Bakterien. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 45, 450.

Neusser, Zur Klinik des Maltafiebers. 18. Kongreß f. innere Med., **1900**.

Nicolas, De l'action agglutinante du sérum antidiph. sur le bac. Löffler et de son rôle dans les effets prévent. et anal. de ce sér. Arch. de pharmacodyn., **1897** et Compt. rend. soc. Biol., **1896**.

Nicolas & Lesieur, Sur l'agglutination de staphyl. aur. par le sér. des animaux vaccinés et infectés. Compt. rend. soc. Biol., 26, I. **1901**.

[1] Nicolle, Une épidémie de psittacose. Compt. rend. soc. Biol., janv. **1899**.

[2] — Une conception générale des anticorps et de leurs effets. Compt. rend. soc. Biol., T. 62, **1907**.

[3] — Recherches sur la substance agglutinée. Ann. Pasteur, T. 12, **1898**.

[4] — L'agglutination spontanée des cultures, ses rapports avec l'agglutination par les sérums. Soc. de Biol., 12. XII. **1898**.

Nicolle & Abt, Les anticorps des albuminoides et des cellules. Ann. Pasteur, T. 22, 132, **1908**.

Nicolle & Cathoire, Etude d'une épidémie de fièvre typhoide africaine. Existence en Tunisie des infections paratyphiques. Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis, **1906**.

Nicolle & Conseil, Fièvre méditerranéenne chez le cobaye par inoculation sous-cutanée et ingestion de cultures. Compt. rend. soc. Biol., T. 67, **1909**.

[1] Nicolle & Trenel, Recherches sur le phénomène de l'agglutination. Ann. Pasteur, T. 16, 562, **1902**.

[2] — — Compt. rend. soc. Biol., **1901**.

Nieter & Liefmann, Bemerkenswerte Befunde bei Untersuchungen über Typhusbacillenträger etc. Münch. med. Wochenschr., **1906**, S. 1611.

Nischino, C., Untersuchung der Paratyphus-B- und Mäusetyphusbacillen. Zeitschrift f. Hyg., Bd. 69, 92, **1911**.

Nobele, de, Du sérodiagnostic dans les affections gastro-intestinalis d'orig. alimentaire. Bull. soc. de méd. Gand, **1899** (zit. nach Drigalski).

Nobécourt & Bigart, Des propriétés agglutinatives comparées du sérum sanguin et des sérosités pour le bacille d'Eberth au cours des infections etc. Compt. rend. soc. Biol., 2. II. **1901**.

[1] Obermayer & Pick, Ueber den Einfluß physikalischer und chemischer Zustandsänderungen präzipitinogener Substanzen auf die Bildung von Immunpräzipitinen. K. k. Ges. d. Aerzte in Wien, 22. Mai **1903**; Wien. klin. Wochenschr., **1903**, S. 659.

[2] — — Ueber den Begriff der Art- und Zustandsspezifität (originäre und konstitutive Gruppierung) und die Beeinflussung der chemischen Eigenart des Tierkörpers. Wien. klin. Wochenschr., **1904**, S. 265.

[3] — — Zur Kenntnis der Präzipitinwirkung. Hofmeisters Beitr., Bd. 7, 455.

Ohno, An investigation of the quantitative relationships between agglutinin etc. Phil. journ. of science, Vol. 3, B. med. sc., **1908**, p. 47.

Onaka, Ueber Meningokokkenserum. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 66, 348, **1910**.

v. Oordt, Zur Serodiagnostik des Abdominaltyphus. Münch. med. Wochenschrift, **1897**, Nr. 13.

Orlowski, A., Studien über biologische und pathogene Eigenschaften des Bact. coli. Inaug.-Diss. St. Petersburg **1897**; Ref. in Baumgartens Jahrbuch, **1897**, S. 402.

Ostrianine, Sur les propriétés bactéricides du sérum sanguin pendant les maladies. Ann. Pasteur, T. 15, 266, **1901**.

Ostwald, Grundriß der Kolloidchemie, Dresden **1909**.

Otto, Weitere Beiträge zur Agglutination der Staphylokokken. Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, **1903**.

[1] Paltauf, Richard, Ueber Agglutination und Präzipitation. Deutsche med. Wochenschr., **1903**.

[2] — Sitzung der k. k. Gesellsch. d. Aerzte in Wien, 30. V. **1897**. Wien. klin. Wochenschr., **1897**, S. 431.

[3] Paltauf, Richard, Sitzung der k. k. Gesellsch. d. Aerzte in Wien, 28. Mai **1897** und Wien. klin. Wochenschr., **1897**, S. 537.
[4] — Sitzung der k. k. Gesellsch. d. Aerzte in Wien, 27. I. **1899**.

Pamart, A propos des courbes de séroréaction dans la typhoid. Compt. rend. soc. Biol., **1899**, p. 121.

Pane, Ueber die Heilkraft des aus verschiedenen Tieren gewonnenen antipneumonischen Serums. Centralbl. f. Bakt., Bd. 21, 664, **1897**.

Park, Bemerkungen über die Wirkung des Blutserums tuberkulöser Tiere und Menschen auf den Tuberkelbacillus. Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 26, 675, **1900**.

Passini, Fr., Bacillus putrificus Bienstock und Gasphlegmonebacillus. Variabilität der Bakterien und Agglutinationsphänomene. Münch. med. Wochenschrift, **1904**.

Patton, H. E., Die Wanderung und Ausflockung von Kolloiden als Adsorptionserscheinung. Amerikan. elektrochem. Gesellsch., 3. V. **1906**; Ref. Kolloidzeitschr., Bd. 4, 40, **1908**.

[1] Pauli, Wolfgang, Pflügers Arch., Bd. 78, 320.
[2] — Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide. Hofmeisters Beitr., Bd. 3, 225; Bd. 5, 27; Bd. 7, 531.
[3] — Die kolloiden Zustandsänderungen der Eiweißkörper. Fortschr. naturw. Forsch., Bd. 4, 223, **1912**.

Pauli & Rona, Hofmeisters Beiträge, Bd. 2, 39.

Pauli & Wagner, Biochem. Zeitschr., Bd. 27, 296, **1910**.

Pechere & Heyer, Sérodiagnostic de Widal positif dans un cas mortel de tuberculose aigue. Journ. méd. de Bruxelles, août **1899**.

Pergola, La diagnosi batteriologica rapida del colera. L'igiene moderna, Vol. 4, **1911**.

Petterson, Ueber die Virulenz und die immunisierende Wirkung bei Typhusbac. Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, 73.

Petrie & O'Brien, The experimental production of the Carrier-state by feeding. Proc. roy. soc. path. sect., Vol. 4, 70, **1910**.

Petruschky, J., Bacillus faec. alcaligenes. Centralbl. f. Bakt., Bd. 19, **1896**.

[1] Pfaundler, M., Eine neue Form der Serumreaktion auf Coli- und Proteusbacillosen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 23, 71, **1898**.
[2] — Eine handliche Methode zur Messung der agglutinativen Fähigkeit des Blutes Kranker. Wien. klin. Wochenschr., **1898**, Nr. 21.
[3] — Zur Serodiagnostik im Kindesalter. Jahrb. f. Kinderheilk., Bd. 50, 295.
[4] — Ueber Gruppenagglutination und über das Verhalten des Bacterium coli bei Typhus. Münch. med. Wochenschr., **1899**, Nr. 15.

[1] Pfeiffer, R., Ueber Virulenz. Festschr. zu Ehren Kochs, **1904**.
[2] — Referat vom XVI. intern. hygien. Kongr. in Brüssel, **1903**.
[3] — Ein neues Grundgesetz der Immunität. Deutsche med. Wochenschr., **1896**, Nr. 7 und 8.
[4] — Kritische Bemerkungen zu Grubers Theorie der aktiven und passiven Immunität gegen Cholera, Typhus und verwandte Krankheitsprozesse. Deutsche med. Wochenschr., **1896**, S. 232.
[5] — Untersuchungen über das Wesen der Choleraimmunität und über spezifisch bakterizide Prozesse. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 18.
[6] — Ueber spezifische Immunität der Typhusbacillen. Deutsche med. Wochenschrift, **1894**, Nr. 48.
[7] — Weitere Mitteilungen über die spezifischen Antikörper der Cholera. Zeitschrift f. Hyg., Bd. 20.
[8] — Die Differentialdiagnose der Choleravibrionen mit Hilfe der Immunisierung. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 10.

Pfeiffer & Friedberger, Ueber das Wesen der Bakterienvirulenz etc. Berl. klin. Wochenschr., **1902**, S. 581.

[1] Pfeiffer & Kolle, Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Schutzimpfung des Menschen gegen Typhus abdominalis. Deutsche med. Wochenschrift, **1896**, Nr. 46.
[2] — — Zur Differentialdiagnose der Typhusbacillen vermittelst Serums usw. Deutsche med. Wochenschr., **1896**, Nr. 12, S. 183.
[3] — — Weitere Untersuchungen über die spezifische Immunitätsreaktion der Choleravibrionen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 20, Nr. 4 und 5, S. 129, **1896**.

Pfeiffer & Vagedes, Beitrag zur Differentialdiagnose der Choleravibrionen mit Hilfe des spezifischen Choleraantikörpers. Centralbl. f. Bakt., Bd. 19, 385, **1896**.

[1] Pfeiler, W., Die Serodiagnose der Rotzkrankheit. Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere, Bd. 7, 328, 465, **1910**.

[2] — Zur Agglutination der Streptokokken. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. etc., Bd. 2, 21, **1909**.

Pfuhl, Eine Vereinfachung des Verfahrens zur Serodiagnostik des Typhus. Centralbl. f. Bakt., Bd. 21, 52, **1897**.

Pfuhl-Drigalski, Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens, **1902**.

[1] Pick, P. E., Zur Kenntnis der Immunkörper. II. u. III. Mitteilung. Hofmeisters Beiträge, Bd. 1, **1902**.

[2] — II. Mitteilung. Hofmeisters Beiträge, Bd. 1, **1901**.

Pick, E. P., & Schwarz, O., Ueber die Beeinflussung der Antigenwirkung durch Lecithin etc. Biochem. Zeitschr., Bd. 15, 453, **1909**.

Pick, Fr., Ueber die Widalsche Serumdiagnose mit Berücksichtigung der Trockenmethode. Wien. klin. Wochenschr., **1897**, Nr. 4.

Picton & Linder, Journ. chem. soc., Vol. 67, 63, **1895** u. Vol. 71, 568, **1897**.

Pitt, W., Der Bac. nodulifaciens bovis Langer ein Vertreter der Enteritis II (Gärtner-)Gruppe. Centralbl. f. Bakt., Bd. 49, 593, **1909**.

Poggenpohl, Zur Diagnose und zum klinischen Verlauf des Paratyphus. Zeitschr. f. Hyg., **1907**, Nr. 57.

Pokchichevsky, L'agglutination entrant que moyen de diagnostic de la morve. Gazeta Botkine, **1901**, und Russ. Arch. f. Path., klin. Med. u. Bakt., **1901**.

[1] Pollaci, La reazione agglutinante e l'emo-batterioscopia nella diagnosi della febbre mediterranea. Ref. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., **1909**, p. 1041.

[2] — Einige Modalitäten der Technik in der Ausführung der Wrightschen Agglutinationsreaktion. Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 52, 108.

Porcile, Beitrag zur differentialdiagnostischen Untersuchung der Typhus- und typhusähnlichen Bakterien mit Hilfe der Agglutination. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 50, 215, **1905**.

[1] Porges, Otto, Ueber die Agglutinabilität der Kapselbakterien. Wien. klin. Wochenschr., **1905**, S. 691.

[2] — Handb. d. Technik d. Immunitätsforsch., Bd. 2, 1147.

[3] — Ueber die Beziehungen zwischen Bakterienagglutination und Ausflockungserscheinungen der Kolloide. Centralbl. f. Bakt., Bd. 40, 133, **1905**.

[4] — Zur Kenntnis der agglutinierenden Immunsera. Ebenda, Bd. 39, 319, **1905**.

[5] — Folgen der Veränderungen des Bakterienproteins für die Agglutination und Präzipitation. Zeitschr. f. experim. Path., Bd. 1, 620, **1905**.

Porges, O., & Prantschoff, A., Ueber die Agglutinabilität von Bakterien, besonders B. typhi. Centralbl. f. Bakt., Bd. 41, Heft 4.

Posner, Die Leistungsfähigkeit der Komplementablenkungsmethode für die Typhusdiagnose. Münch. med. Wochenschr., **1907**, S. 1309, und Berl. klin. Wochenschr., **1908**, Nr. 37.

Posselt, A., & v. Sagasser, R., Ueber Beeinflussung der Agglutinine durch spezifische Absorptionen etc. Wien. klin. Wochenschr., **1903**, Nr. 24.

Prausnitz, Ueber den gegenwärtigen Stand der Choleradiagnose. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 43, 239, **1903**.

Přibram, Agglutinine im passiv immunisierten Organismus. Münch. med. Wochenschr., **1906**, Nr. 51.

[2] — Tagung d. fr. Vereinigung f. Mikrob., **1912**.

[1] Pröscher, Deutsche med. Wochenschr., **1903**, Nr. 11.

[2] — Zur Anstellung d. Widalschen Reaktion. Centralbl. f. Bakt., Bd. 31, 400, **1902**.

Pröscher & Roddy, A report of 48 new cases of paratyphoid fever (Type A). Journ. of the Amer. med. assoc., Vol. 52, **1909**.

Pulvirenti, Sul potere agglutinante di sangue immune etc. Gaz. med. Ital., **1904**; Ref. Baumgartens Jahresber., **1904**, S. 396.

[1] Radzievsky, Beiträge zur Kenntnis des Bacterium coli (Biologie, Agglutination, Infektion). Centralbl. f. Bakt., Bd. 26, 753, 1899.

[2] — Dasselbe. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 34, Heft 3, **1900**.

v. Radzikowski, St., Ueber das sogen. Typhusdiagnostikum. Wien. klin. Wochenschr., **1904**, S. 276.

RAMSDEN, Abscheidung fester Körper in den Oberflächenschichten von Lösungen etc. Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 47, 336, **1904**.
RANSOM & KITASHIMA, Untersuchungen über die Agglutinationsfähigkeit der Choleravibrionen durch Choleraserum. Deutsche med. Wochenschr., **1908**, S. 293.
RANZI, E., & EHRLICH, H., Ueber die Wirkung von Toxinen etc. bei parabiotischen Tieren. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 3, 38, **1909**.
RATH, Ueber den Einfluß der blutbildenden Organe auf die Entstehung der Agglutinine. Centralbl. f. Bakt., Bd. 25, 549, **1899**.
RAVA, G., Ancora del passagio delle agglutinine tifiche della madre ai feto attraverso la placenta. Boll. sc. med., **1910**; Ref. Zeitschr. f. Immunitätsf., **1910**, S. 413.
[1] REHNS, J., L'absorption des toxines, agglutinines etc. injectés au niveau des voies respiratoires. Compt. rend. soc. Biol., 22. VI. **1901**.
[2] — L'agglutinabilité du bac. typhique; mesure de son pouvoir agglutinogène. Compt. rend. soc. Biol., 21. XII. **1901**, p. 1143.
[3] — Contributions à l'étude de l'immunité acquise. Compt. rend. soc. Biol., **1900**, p. 1058.
[1] REMLINGER, P., Fièvre typhoide expérimentale par contamination alimentaire. Ann. Pasteur, T. 11, 55, **1897**.
[2] — Contribution expérimentale à l'étude de la transmission héréditaire de l'immunité etc. Ann. Pasteur, T. 13, **1899**.
REMY, L., Contribution à l'étude de la fièvre typhoide et de son bacille. Ann. Pasteur, **1900**, p. 555.
RIBBERT, Lehrb. d. allgem. Path. usw., Leipzig **1901**.
RICHARDSON, Die Diagnose der Typhuskultur vermittelst getrockneten Typhusserums. Centralbl. f. Bakt., Bd. 21.
RIDDER. Beitrag zur Frage der Aetiologie der Fleischvergiftungen. Berl. klin. Wochenschr., **1909**, S. 2232.
RIEUX & SACQUÉPÉE, Agglutinierende Wirkung der Typhus- und Paratyphussera auf die Bacillen der Fleischvergiftung. Compt. rend. soc. Biol., T. 60, **1905**.
[1] RIMPAU, Zur Frage der Verbreitung der Bacillen aus der Paratyphusgruppe. Deutsche med. Wochenschr., **1908**, Nr. 24; Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 30, **1909**.
[2] — Mitagglutination für Typhus bei Infektion mit Bac. enteritid. Gärtner. Münch. med. Wochenschr., **1909**, S. 1843.
[3] — Bakteriologische Befunde bei Untersuchungen darmkranker Kinder. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 38, Heft 3, **1911**.
ROCCHI, Serodiagnostische Untersuchungen über die wichtigsten anaëroben Buttersäurekeime mit den Methoden der Agglutination und Komplementhemmung. Centralbl. f. Bakt., Bd. 60. 579, **1911**.
RODELLA, Experimenteller Beitrag zur Serumreaktion bei Proteus vulgaris. Centralbl. f. Bakt., Bd. 27, 583, **1900**.
[1] RODET, Sur l'agglutination du bacille d'Eberth et du B. coli. I. Sur les races du bact. coli au point de vue de leur pouvoir agglutinative. Journ. de phys. et path. gén., T. 1, 806, **1899**. II. Mém. Bacilles typhiques cadaveriques. Ebenda, T. 2, **1900**. III. Mém. T. 3, 115—628, **1901**. IV. Mém. Ebenda, p. 629—643 et Compt. rend. soc. Biol., 15. II. **1902**.
[2] — Sur l'agglutinine des sérums normaux. Quelques particularités du pouvoir agglutinatif et précipitant etc. Compt. rend. soc. Biol., **1903**, p. 1628.
[3] — A propos de la propriété agglutinative etc. Centralbl. f. Bakt., Bd. 37, 714, **1904**.
RODET & LAGRIFFOUL, La propriété agglutinative du sérum des animaux immunisés à l'égard du bacille d'Eberth etc. Journ. de phys. et path. gén., **1902**.
[2] — — Compt. rend. soc. Biol., **1903**, p. 1626.
[3] — — Compt. rend. soc. Biol., **1903**, p. 1896.
RODHAIN, Beitrag zur Kenntnis der wirksamen Substanzen des Antistreptokokkenserums. Hofmeisters Beiträge, Bd. 3, 451.
ROGER, Revue gén. des scienc., Sept. **1896**.
ROGOSINSKI, Bull. de l'acad. des scienc. de Cracovie, **1902**.
ROLLY, Zur Diagnose des Typhus abdominalis. Münch. med. Wochenschr., **1904**.

Rolly & Meltzer, Experim. Untersuchungen über die Bedeutung der Hyperthermie. Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 94, 335, **1908**.

Romberg, E., Zur Serumdiagnose der Tuberkulose. Deutsche med. Wochenschrift, **1901**, Nr. 18, 19.

Rosenberg, Zum Uebergang der Agglutinine in Transsudate unter normalen Bedingungen und bei Urämie. Ref. Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 35, 193, **1905**.

[1] De Rossi, Gino, Ueber die Agglutinationsfrage und insbesondere die Beteiligung der Geißeln. Centralbl. f. Bakt., Bd. 36, 685 und Bd. 37, 107, **1904**.

[2] — Filtrierbarkeit der Geißeln und ihre Funktion als freie Rezeptoren. Ebenda, Bd. 37, 433, **1904**.

[3] — Ueber die Agglutinationsfrage und insbesondere die Beteiligung der Geißeln der Bakterien. Ebenda, Bd. 36, 685, **1904**.

[4] — Ebenda, Bd. 40, 562, **1906**.

[5] — Ueber die Phänomene der Agglutination der Bakterien. Ebenda, Bd. 40, 698, **1906**.

Rost, Die Verwertung von Säureagglutination zur Diagnose von Typhusbacillen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 60, 324, **1911**.

Rost, Fr., Ueber das Verhalten der normalen Agglutinine bei akutem Blutverlust. Inaug.-Diss., Heidelberg **1909**; Ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 43, S. 437.

[1] Rostoski, Die Serumdiagnostik. Würzburger Abhandlungen, Würzburg **1903**.

[2] — Die Serumdiagnostik. Würzburger Abhandlungen aus dem Geb. d. prakt. Med., Bd. 4, Heft 2, **1902**.

Rothammel, De l'agglutination du bacille de la tuberculose humaine étudiée plus spécialement chez les tuberculeux cachéctiques. Thèse inaug., Bordeaux **1899**.

Rothe, Ueber die Agglutination des Sporotrichon Beurmanni. Deutsche med. Wochenschr., **1910**, Nr. 1.

[1] Rothberger, Ueber Agglutination des Bacterium coli. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 34, Heft 1.

[2] — Ueber die Regeneration der Agglutinine nach Blutverlusten. Centralbl. f. Bakt., **1906**.

Rouslacroix, A propos du sérodiagnostic de la fièvre de Malte. Compt. rend. soc. Biol., T. 70, 397, **1911**.

Rouslacroix & Wyse-Laufun, Diagnostic rétrospectif probable de sporotrichose. Compt. rend. soc. Biol., T. 67, 858, **1909**.

Ruck, General and specific resistence to tuberculosis infections. Amer. journ. of the med. scienc., Vol. 137, 393, **1909**.

Ruffer & Willmore, The serumtreatment of dysenterie. Brit. med. journ., Vol. 2, 1519, **1910**.

Ruitinga, P., Over agglutinatie van tuberkelbacillen ter herkenning van tuberkulose. Inaug.-Diss., de Bussy, Amsterdam **1901**, und Zeitschr. f. Tuberk., Bd. 3, 489.

Rumpf, E., & Guinard, L., Ueber die Agglutination der Tuberkulosebacillen und die Verwendung dieser Agglutination. Deutsche med. Wochenschr., **1902**, Nr. 8, S. 31.

Ruppel, Ueber den Diplococcus intracellulairis meningitidis und seine Beziehungen zu den Gonokokken. Deutsche med. Wochenschr., **1906**, S. 1366.

Sabrazès & Brengues, Agglutinines chimiques. Compt. rend. soc. Biol., **1899**, 25. Nov.

Sabrazès & Rivière, Réaction agglutinante du sérum de l'homme et de l'animal tétanique sur le bacille de Nicolaier. Compt. rend. soc. Biol., 26. juin **1897**.

Sachs, H., & Altmann, K., Komplementbindung im 2. Ergänzungsband d. Handb. Kolle-Wassermann, **1909**, S. 478.

Sachs-Müke, Die Haltbarkeit des Agglutinationsvermögens von aufbewahrtem Blutserum Typhuskranker. Klin. Jahrb., Bd. 20, **1909**.

Sadler, Ueber den Einfluß des Temperaturopt. von 55° C auf die Agglutination bei Fickerschem und Widalschem Versuch. Berl. klin. Wochenschr., **1905**, Nr. 10.

Salge & Hasenknopf, Ueber Agglutination der Streptokokken bei Scharlach. Deutsche med. Wochenschr., **1902**; Verhandl. deutsch. Naturf. u. Aerzte, **1902**.

SALIMBENI, Recherches sur l'immunité. I. Sur l'agglutination. Ann. Pasteur, 1897, p. 277.

SANDRO DE E TRIA, La sieroazione nei sani di fronte al gruppo del Coli, Tifo etc. Ref. med., 1910, Nr. 15.

SANFELICE, Die Antikörper des Blutserums mit Blastomyceten behandelter Tiere. Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, 360, 1902.

SAQUÉPÉE, E., Infection secondaire par le Bac. mesenteric au cours de la fièvre typhoide. Ann. Pasteur, T. 15, 261, 1901.

SARTORI, Ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 35, 122, 1904.

[1] SAVAGE, Journ. of path. and bact., Vol. 7, 1901.

[2] — Remarks on the cases of enteric fever etc. Lancet, 1900, Vol. 2, p. 1401.

SAWJALOW, Zur Theorie der Eiweißverdauung. Pflügers Arch., Bd. 85, 171, 1901.

SAWTSCHENKO, Contribution à l'étude de l'immunité. Ann. Pasteur, T. 11, 1897.

SAWTSCHENKO & MELKICH, Immunité contre la fièvre recurrente. Ebenda, T. 15, 497, 1901.

SCHATTENFROH, Chemisch-biolog. Verhalten des Rauschbrandbacillus und des Oedembacillus. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 48, 77, 1904.

[1] SCHEFFER, J., Ueber die Widalsche Serodiagnose. Berl. klin. Wochenschr., 1897, Nr. 11.

[2] — Berl. klin. Wochenschr., 1897, S. 224.

[1] SCHELLER, ROBERT, Experimentelle Beiträge zur Theorie der Agglutination. I. Normalagglutinine. Centralbl. f. Bakt., Bd. 36, S. 427 u. 694, 1904.

[2] — Experimentelle Beiträge zur Theorie und Praxis der Gruber-Widalschen Agglutinationsprobe. Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, 100, 1905.

[3] — Ueber den Agglutinationsmechanismus. Centralbl. f. Bakt., Bd. 54, 150.

SCHLAGENHAUFER, Ueber Pyocyaneusinfektion nach Lumbalanästhesie. Centralbl. f. Bakt., Bd. 59, 385, 1911.

[1] SCHMIDT, R., Ueber ein eigenartiges serodiagnostisches Phänomen (amorphe Agglutination) in Friedländer-Rekonvaleszentenserum. Wien. klin. Wochenschrift, 1903, S. 873.

[2] — Zur Kenntnis der Paratyphusbacillen. Ebenda, 1902, Nr. 50.

[1] SCHMITT, Zur Variabilität der Enteritisbakterien. Zeitschr. f. Infektionskrankh. etc. d. Haustiere, Bd. 9, 188, 1911.

[2] — Der Bac. paratyph. B als Krankheitserreger bei Kälbern. Deutsche tierärztl. Wochenschr., 1908, Nr. 47 u. 48.

SCHNEIDER, Moderne Typhusbekämpfung. Int. Kongr. f. Hyg. u. Dem., Berlin 1907.

SCHNÜRER, Die Verwertung der biologischen Reaktion (Agglutination und Präzipitation) bei der Diagnose des okkulten Rotzes. Zeitschr. f. Inf., paras. Krankh. u. Hyg. d. Haustiere, Bd. 1, 53, 1906.

SCHOLTZ, Beiträge zur Serodiagnostik des Abdominaltyphus. Hyg. Rundschau, 1898, S. 423.

SCHOLTZ & KRAUSE, Ueber den Wert der bakteriologischen Untersuchungsmethoden usw. Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 41, 405.

[1] SCHÖNE, Nachweis eines atyp. Bact. coli als Krankheitserreger bei Meerschweinchen. Berl. klin. Wochenschr., 1909, p. 970.

[2] — Ueber Infektionen mit Paratyphusbacillus-A etc. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 65, 1, 1910.

SCHORR, KARL, Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide. Biochem. Zeitschr., Bd. 13, 173, 1908 und Bd. 37, 424, 1911.

SCHOTTELIUS, Münch. med. Wochenschr., 1905, Nr. 15.

[1] SCHOTTMÜLLER, Ueber eine das Bild des Typhus bietende Erkrankung, hervorgerufen durch typhusähnliche Bacillen. Deutsche med. Wochenschr., 1900, S. 511.

[2] — Weitere Mitteilungen über mehrere das Bild des Typhus bietende Krankheitsfälle, hervorgerufen durch typhusähnliche Bacillen (Paratyphus). Zeitschr. f. Hyg., Bd. 36, 368, 1900.

SCHOTTMÜLLER & MUCH, Die Opsonine als Differenzierungs- und Identifizierungsmittel pathogener Bakterienarten. Münch. med. Wochenschr., 1908, Nr. 91.

SCHRÖDER, KNUD, Inaug.-Diss., 1909; Ref. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 1909, S. 612.

Schroeter & Gutjahr, Vergleichende Untersuchungen der Typhus-, Coli-, Dysenteriebakterien im Anschluß an eine kleine Ruhrepidemie in Deutschland. Centralbl. f. Bakt., Bd. 58, 577, **1911**.

Schrumpf, P., Vergleichende Untersuchungen über die Typhusdiagnose mittels Bacillenemulsion und Fickerschem Diagnostikum. Münch. med. Wochenschr., **1907**, Nr. 51, S. 2517.

Schütttrumpf, Diss. Göttingen, Baumgartens Jahresber., **1906**.

[1] Schumacher, Typhus abdominalis ohne Widalsche Reaktion. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 30, 364.

[2] — Uebergang der Agglutinine auf den Fötus. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 37, 323.

Schultz, W., Ueber Agglutination durch die Tränenflüssigkeit Typhuskranker. Med. Klin., **1905**, S. 1386.

Schultz, Zur Statistik der Mitagglutination von Typhus- und Paratyphus-B-Bacillen. Deutsche med. Wochenschr., **1909**, Nr. 13.

Schultz & Zsigmondy, Hofmeisters Beiträge, Bd. 3.

Schütze, A., Zur Frage der Differenzierung einzelner Hefearten mittelst der Agglutination. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 44, 123.

Schwarz, O., Ueber den Einfluß künstlicher Aenderungen im Bakterienprotoplasma auf dessen agglutinogene Fähigkeiten. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 1, 77, **1908**.

Schwarz & Friedberger, dieses Handbuch, Bd. 4.

Schweinburg, Ueber den Wert der bakteriologischen Untersuchung kleiner Blutproben für die klinische Diagnose des Typhus und Paratyphus. Wien. klin. Wochenschr., **1910**, S. 317.

Schwoner, Ueber Differenzierung d. Diphtheriebac. von den Pseudodiphtheriebacillen durch Agglutination. Wien. klin. Wochenschr., **1902**, Nr. 48.

Sclavo, Di un primo experimento publico di vaccinazione antitifica eseguita in Italia. Rivist. crit. de clin. med., **1905**, Nr. 40; zit. nach Friedberger.

[1] Seiffert, Studien über die Salmonella-Gruppe. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 63.

[2] — Ueber Mutationserscheinungen bei künstlich giftfest gemachten Colistämmen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 71, 561, **1912**.

[3] — Ueber den Bordetschen Keuchhustenbacillus. Münch. med. Wochenschr., **1909**, S. 131.

Shaw, H., Lancet, **1897**, Vol. 2, 530.

[1] Shibayama, G., Ueber die Agglutination des Pestbacillus. Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, 482, **1905**.

[2] — Zur Agglutinoidfrage. Centralbl. f. Bakt., Bd. 42, 64, **1906**.

Shibayama & Owada, siehe Shibayama 2.

[1] Shiga, Ueber den Erreger der Dysenterie. Centralbl. f. Bakt., Bd. 23, 24, **1898**.

[2] — Weitere Studien über den Dysenteriebacillus. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 41.

[3] — Ueber aktive Immunisierung von Menschen gegen Typhusbacillen. Berl. klin. Wochenschr., **1904**, Nr. 4.

Shimodaira, Experimentelle Beiträge zur Wirkungsweise der Bierschen Stauungstherapie. Deutsche med. Wochenschr., **1909**, S. 525.

Sicard, Compt. rend. soc. Biol., 21. Oct. **1899**.

Siciliano, Intorno alla questione dell'immunità locale. Riv. crit. clin. med., Vol. 10, **1909**.

Siegfried, Arch. internat. de pharm. et de therapie, T. 9, **1901**.

Signorelli, Agglutinationsversuche mit Bacillen der Lungenpest. Centralbl. f. Bakt., Bd. 60, 316, **1911**.

Silvestrini, Riforma med., 16. VI. **1898**; Settimana med., 1898.

Sion & Negel, Ueber eine von einem atypischen Colibacillus veranlaßte Erkrankung. Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, 481, **1902**.

Skchivan, Sorts des levures dans l'organisme. Ann. Pasteur, **1899**.

Sklower, Beiträge zur Serumdiagnostik des Typhus abdominalis. Inaug.-Diss., Leipzig **1897**.

Skutetzky, Ueber den Wert des Fickerschen Typhusdiagnostikums im Vergleiche zur ursprünglichen Gruber-Widalschen Reaktion. Zeitschr. f. Heilk., Bd. 25, **1904**.

Smidt, Henry, Zur Charakterisierung der Hogcholeragruppe. Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, 24, **1905**.

Smith, H. L., Zur Kenntnis des Säuglingsstuhles. Centralbl. f. Bakt., Bd. 25, 689, **1899**.

SMITH, F., Reaction of sera of anomalous and other fever cases und
SMITH, F., & QUICK, The sedimentary effect of the sera of horses on B. typhus and coli. Beide Ref. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., II. T., Ref., **1911**, S. 448.
[1] SMITH & REAGH, The agglutination affinities of related bacteria parasitic in different hosts. Studies from the Rockefeller Institute to med. res., Vol. 1, **1904**.
[2] — — The non-identity of agglutinin acting upon the flagella and upon the body of bacteria. Ebenda.
SMITH & TENNANT, S., A study of the epidemie of typhoid fever in Belfast. Brit. med. journ., Vol. 1, **1898**.
[1] SOBERNHEIM, Ueber Tuberkuloseantikörper. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 5, 349, **1910**.
[2] — Ueber Enteritisbakterien. Centralbl. f. Bakt., Bd. 46, 59, **1909** (3. Tagung der Vereinigung).
[3] — KREHL-MARCHANDS Handbuch der allgem. Pathol., Bd. 1, 519.
[1] SOBERNHEIM & SELIGMANN, Beobachtungen über die Umwandlung biologisch wichtiger Eigenschaften von Bakterien. Untersuchungen an der Enteritisgruppe. Deutsche med. Wochenschr., **1910**, Nr. 8.
[2] — — Beiträge zur Biologie der Enteritisbakterien. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, 901, **1910**.
[3] — Weitere Untersuchungen etc. Ebenda, Bd. 7, 342, **1910**.
SPÄTH, Die Diagnose der typhoiden Krankheiten des Menschen. Wien. klin. Wochenschr., **1907**.
SPILKA, Fickerovo typhusdiagn. a Gruber-Widalova reakte. Lekarske Rozhledy, **1904**; Ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 35, 352, **1904**.
[1] SPIRO, K., Ueber die Beeinflussung der Eiweißkoagulation durch stickstoffhaltige Substanzen. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 30, 182, **1900**.
[2] — Die Fällung von Kolloiden. Hofmeisters Beiträge, Bd. 4, 300, **1904**.
SPRING, W., Sur la floculation des milieux troubles. Recueil des travaux chimiques des Pays Bas, **1911**. Ref. Journ. d. phys. et path. générale, **1911**, p. 115.
[1] STÄUBLI, Experimentelle Untersuchungen über die Ausscheidung der Typhusagglutinine. Centralbl. f. Bakt., Bd. 33, 375, **1903**.
[2] — Zur Technik der Gruber-Widalschen Reaktion. Münch. med. Wochenschr., **1904**, Nr. 48.
[3] — Ueber das Verhalten der Typhusagglutinine im mütterlichen und fötalen Organismus. Münch. med. Wochenschr., **1906**, Nr. 17, S. 798.
[4] — Beiträge zur Frage der biologischen Beziehungen zwischen Mutter und Kind. Arch. f. Kinderheilk., Bd. 49, 321, **1909**.
[5] — Ueber die Bildung der Typhusagglutinine etc. Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Bd. 36, 291, **1904**.
STAEHELIN, Ueber die Widalsche Serumdiagnose des Typhus abdom. Correspondenzbl. f. Schweiz. Aerzte, **1898**, Nr. 6 und 7.
STEFANO, Sull' agglutinazione specifica del vibrione colerico etc. Gaz. int. di med., **1911**, S. 422. Ref. in Weichardts Jahresb., **1911**.
STEFANELLI, P., Contributo allo studio della sieroreazione del micrococco melitense. Riv. crit. di clin. med., **1907**, Nr. 31.
STENGEL, New York med. journ., **1898**, p. 338.
v. STENITZER, Zur Verwertung des Typhus- und Paratyphusdiagnostikums (nach Ficker). Med. Klinik, **1911**, S. 494.
[1] STERN, Ueber Fehlerquellen der Serodiagnostik. Berl. klin. Wochenschr., **1897**, Nr. 11 und 12.
[2] — Ueber die Serodiagnostik des Abdominaltyphus. Allgem. med. Centralzeit., **1898**, Nr. 48.
[3] — Ueber den Wert der Agglutination für die Diagnose des Abdominaltyphus. Berl. klin. Wochenschr., **1903**, Nr. 30 und 31.
[4] — Typhusserum und Colibacillen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 23, 673, **1898**.
STERN & KORTE, Nachweis der bakteriziden Reaktion im Blute von Typhuskranken. Deutsche med. Wochenschr., **1904**, S. 213.
[1] STERNBERG, K., Zur Biologie des Boasschen Milchsäurebacillus. Wien. klin. Wochenschr., **1898**, S. 744.
[2] — Zur Verwertbarkeit der Agglutination für die Diagnose der Typhusbacillen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 34.

Streit, H., Zur Frage der Agglutinierbarkeit von Kapselbacillen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 40, 709, 1906.

[1] Streng, Oswald, Alexin oder Proagglutinoid. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, 515, 1910.

[2] — Vergleichende Untersuchungen über den Einfluß von Temperatur und Alkali auf die Typhus- und Coli-Immunagglutinine und auf die Coli-Normalagglutinine. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 62, 281, 1909.

Stromberg, H., Zur Frage über die Umwandlung wichtiger biologischer Eigenschaften bei Bakterien (Enteritisgruppe). Centralbl. f. Bakt., Bd. 58, 401, 1911.

Strong & Musgrave, The occurence of Malta fever in Manila. Phil. med. journ., 1899.

Stühlinger, Ueber einen Ersatz der lebenden Bakterienkulturen. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amte, Bd. 24, 54, 1906.

Sugai, Ueber die Agglutination der Leprabacillen durch das Serum von Leprakranken. Dermat. Zeitschr., Bd. 16, 141, 1909.

Svedberg, The, Nova acta Soc. scient. Upsaliensis 1907.

Svenson, N., Agglutinine und Bakteriolysine im Blut von Cholerakranken. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 64, 342, 1909.

[1] v. Szaboki, J., Ein Beitrag zur Kenntnis der kulturellen Eigenschaften des Tuberkelbacillus. Centralbl. f. Bakt., Bd. 43, 651, 1907.

[2] — Agglutinationsversuche bei Tuberkulose. Zeitschr. f. Tuberk., Bd. 14, 1909.

Szokalski, Die Wirkung neutraler Salze auf die Agglutination. Medizyna 1908. Ref. Jahresber. Ergeb. d. Immunitätsf., Bd. 4, 540, 1908.

[1] Tarchetti, Contributo allo studio della serodiagnosi nell' infezione tifoide. Gazz. d'osped., 6. XI. 1898.

[2] — Ueber Fadenbildungen. Ebenda, Nr. 29.

Teaque & Buxton, Die Agglutination in physikalischer Hinsicht. Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 57, 64.

Thellung, Experimenteller Beitrag zur Agglutination der Tuberkelbacillen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, 28, 1902.

Thiercelin & Lenoble, Action agglutinante du lait d'une typhique etc. Presse méd., 1896, p. 374.

Thies, J., Agglutination des Paratyphusbacillus bei Typhus. Berl. klin. Wochenschr., 1908, S. 2300.

Thomas, Ueber Ruhr in Westpreußen. Klin. Jahrb., Bd. 22, 29, 1909.

Thomas, J., Serumdiagnosis of typhoid fever etc. Med. news, Vol. 70.

Thomassen, Une nouvelle septicémie des veaux avec néphrite etc. Ann. Pasteur, 1897, p. 523.

Tobiesen, Ueber den diagnostischen Wert der Widalschen Serumreaktion. Zeitschrift f. klin. Med., Bd. 43, 147 ff., 1901.

Tokunaya, Eine serologische Untersuchung von Choleraträgern. Ref. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, 541, 1911.

Totsuka, Studien über Bact. Coli. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 45, 215, 1903.

Toyosumi, Biolog. Analyse des Reaktionsproduktes zwischen Normalserum und Cholerasubstanz. Fol. serol., III, 1909.

Traube, J., Die Resonanztheorie, eine physikalische Theorie der Immunitätserscheinungen. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 9, 246, 1911.

Trautmann, Die Bacillen der Fleischvergiftung und des Paratyphus. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 45, 139.

Trincas, Sull' agglutinazione degli stafilococchi. Gaz. degli osped., 1908.

Trommsdorff, Ueber den Mäusetyphusbacillus und seine Verwandten. Arch. f. Hyg., Bd. 55, 279, 1906.

Trousaint, La réaction de Widal et le pronostic de la fièvre typhoide. Soc. de biol., 7. II. 1903.

[1] Trumpp, Die Beziehungen der Agglutination zur Immunität. Arch. f. Hyg., Bd. 33, 1898.

[2] — Das Phänomen der Agglutination und seine Beziehungen zur Immunität. Arch. f. Hyg., Bd. 33, H. 1—4, 1898.

Tzuzuki, Ueber die Schnellimmunisierungsmethode nach Fornet und Müller. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, 194, 1910.

[1] Uhlenhuth, Beitrag zur Serumdiagnose beim Typhus. Deutsche milit.-ärztl. Zeitschr., 1897, S. 111.

[2] UHLENHUTH, Zur Kenntnis der gastrointestinalen Fleischvergiftungen und der biol. Eigenschaften ihrer Erreger. v. Leuthold-Gedenkschrift, Bd. 1. Diskussionsber., Freie Ver. f. Mikrobiol., Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 44, **1909**.

UHLENHUTH & XYLANDER, Untersuchungen über das Antiformin. Vereinig. der Mikrobiologen 1908. Centralbl. f. Bakt., Bd. 42, Beiheft; Arb. a. d. Kais. Ges.-Amte, Bd. 32, 158, **1909**.

UHLENHUTH & HÜBENER, Ueber die Verbreitung der Bakterien der Paratyphus-B- und Gärtnergruppe und ihre Beziehungen zur gastrointestinalen Form der Fleischvergiftungen. Med. Klinik, Bd. 47, **1908**.

UHLENHUTH, HÜBENER, XYLANDER, BOHTZ, Untersuchungen über das Wesen und die Bekämpfung der Schweinepest. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amte, Bd. 27, H. 3.

URBAN, Blutuntersuchungen beim Abdominaltyphus etc. Wien. klin. Wochenschr., **1897**, Nr. 32—35.

USTVEDT, Untersuchungen über Widals Reaktion. Verh. des 2. nordischen Kongr. f. innere Med. Baumgartens Jahresber., Bd. 14, 342.

VAN EMDEN, Ueber die Bildungsstätte der agglutin. Substanz bei der Infektion mit Bact. aerogenes. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 30, 19.

[1] VAN DE VELDE, zit. nach BENSAUDE.
[2] — Essai d'agglutination vis à vis de 25 variétés de colibacilles authentiques etc. Bull. de l'acad. Royal de méd. de Belgique, avril **1897**.
[3] — Etudes sur les cas négatifs obtenus par la méthode de Widal dans le diagnostic de la fièvre typhoide. Acad. de méd. de Bruxelles, 27. III. **1897**.
[4] — De la nécessité d'un sérum antistreptococcique polyvalent. Arch. de méd. exp., Vol. 9, 835, **1897**.
[5] — Pouvoir agglutinant d'un sérum de cheval vacciné contre la fièvre typhoide. Compt. rend. soc. Biol., **1897**, Nr. 30.
[6] — Valeur de l'agglutination etc. Centralbl. f. Bakt., Bd. 23, 481, **1898**.

[1] VAGEDES, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amte, Bd. 17.
[2] — Ueber Fleischvergiftungen in gerichtlich-medizinischer Beziehung. Vierteljahresschr. f. gerichtl. Med., **1905**. Paratyphusvergiftung bei einer Mehlspeisenvergiftung. Klin. Jahrbuch, **1905**.

VALAGUSSA, Ricerche di technica serodiagnostica nelle fiebre tifoide. Ann. d'igiene speriment, T. 10, **1900**.

VALSON, zit. nach FRIEDEMANN.

VANNOD, Ueber Agglutinine und spezifische Immunkörper im Gonokokkenserum. Deutsche med. Wochenschr., **1906**, Nr. 49.

VASILESCU. Cultures homogènes du bacille tuberculeux. Compt. rend. soc. Biol., **1904**.

VEDEL, Sem. méd., **1896**, p. 312.

VEDDER & DUVAL, The etiology of acute Dysentery. Journ. of exp. med., Vol. 6, **1902**.

[1] VENEMA, Die Agglutination von Bakterien durch Galle. Berl. klin. Wochenschr., **1906**, Nr. 30.
[2] — Ueber das Temperaturoptimum bei der Gruber-Widalschen Reaktion. Hyg. Rundschau, **1909**, Nr. 2.

[1] VERNEY, L., Contributo allo studio delle stimuline. Rif. med. 3. giugno **1903**.
[2] — Ueber die gegenseitige Wirkung aufeinander folgender Immunisierungen im tierischen Organismus. Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, 290.

ZUR VERTH, Unsere Kenntnisse über die Uebertragung von Mittelmeerfieber. Deutsche militärärztl. Zeitschr., Bd. 36, 938, **1907**.

VERWOORT, Der Wert des Fickerschen Diagnostikums. Ref. Münch. med. Wochenschr., **1905**.

VERWOORT & DE WAARDE, Neederlandsche Tijdschrift voor Geneeskunde, Bd. 21, **1904**, zit. nach MINELLI.

VINCENT, M. H., Sur les aptitudes pathogènes des microbes saprophytes. Ann. Pasteur, T. 13, 785, **1898**.

VIVALDI, La reazione di Widal col sangue essicata. Rif. med., **1898**.

VOLK, RICH., Ueber Agglutination, Technik und Methodik etc. KRAUS-LEVADITI, Handbuch d. Technik u. Methodik d. Immunitätsforsch., Bd. 2, **1909**.

Volk & de Waele, H., Hemmungserscheinungen bei frischen Immunseris. Wien. klin. Wochenschr., **1902**.

Voss, O., Der Bac. pyocyaneus im Ohr. Klinisch-experimenteller Beitrag zur Frage der Pathogenität des Bac. pyocyaneus. Veröff. a. d. Geb. d. Militärsanitätsw., **1906**.

Waldmann, Ergebnisse aus dem gegenwärtigen Stande der Paratyphusfrage. Med. Klinik, **1909**, Nr. 5.

Waele, de & Sugg, Etude sur la variole et la vaccine. Arch. intern. de pharmacodyn. et de thér., T. 12, **1903**.

Walker, Journ. of exp. med., Vol. 5, **1901**.

Walker, E. W., Immunisation against immuneserum. Journ. of path. and bact., Vol. 8, **1902**.

[1] Walter, Zur Typhusdiagnose. Münch. med. Wochenschr., **1904**, Nr. 3.

[2] — Deutsche med. Wochenschr., **1904**, Nr. 33, S. 1193.

Walter, Reed, & Carsole, James, Bac. X. B. icteroides and the Hog-cholera Bac. etc. Journ. of path., Vol. 5, 215.

Washbourn, Experiments with the pneumococcus with special reference to immunity. Journ. of pathol., **1895**, p. 228.

[1] Wassermann, A., Ueber Agglutinine und Präzipitine. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 42, 267.

[2] — Ueber ein neues Diphtherieheilserum. Deutsche med. Wochenschr., **1902**.

[3] — Kongreß f. Hyg. in Brüssel, **1903** und dieses Handbuch, 1. Aufl., Bd. 4.

Wassermann M., Ueber das Verhalten der Dysenteriebacillen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 71, 241, **1912**.

Wassermann, Ostertag, Citron, Ueber das gegenseitige immunisatorische Verhalten der Löfflerschen Mäusetyphusbacillen und der Schweinepestbacillen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52, 282.

Mc Weeney, Roy. Acad. of med. in Ireland, 13. I. **1899**. Brit. med. journ., 11. Feb. **1899**.

Weichselbaum, Meningokokken mit besonderer Berücksichtigung anderer bei akuter Meningitis gefundener Mikroorganismen. Dieses Handbuch, Bd. 3, **1903**.

[1] Weil, Ueber den Einfluß der Temperatur auf die spezifische und nicht-spezifische Agglutination. Centralbl. f. Bakt., Bd. 36 u. 37, S. 677 u. 98, **1904**.

[2] — Agglutinationsbehinderung durch Bakterienextrakte. Biochem. Zeitschrift, Bd. 33, 56, **1911**.

[3] — Ueber Agglutinationsbehinderung der Typhusbacillen. Arch. f. Hyg., Bd. 53.

[4] — Ueber den Mechanismus der Agglutination. Centralbl. f. Bakt., Bd. 37, 426.

Weinberg, Séroréaction chez les anciens typhiques. Compt. rend. soc. Biol., **1897**, p. 905.

Welch, W., Principles underlying the serum diagnosis of typhoid fever etc. Journ. of Amer. med. assoc., Vol. 29, 301, **1897**.

Werner, Ueber Maltafieber in Deutsch-Südwestafrika. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg., Bd. 13, 333, **1909**.

Werner, A., & Ismailova, S., Sur la nature chimique de la substance agglutinante au sérum typhique. Compt. rend. soc. Biol., 13. VI. **1903**.

Whetham, W., Zeitschr. f. physik. Chemie, Bd. 33, **1901**.

[1] Widal, Sérodiagnostic de la fièvre typhoide. Soc. méd. des hôp., 26. Juni **1896**.

[2] — Sur les propriétés agglutinantes et bactéricides du sérum des convalescents de fièvre typhoide. Sém. méd., **1896**, Nr. 51.

[3] — zit. nach Bensaude.

[4] — La mensuration du pouvoir agglutinatif chez les typhiques. Compt. rend. soc. Biol., **1897**.

[5] — Le sérodiagnostic de l'actinomycose. Acad. de méd., **1910**; Sém. méd., **1910**, Nr. 20.

[6] — Etude sur le sérodiagnostic. Ann. Pasteur, T. 11, **1897**.

Widal, Abrami, Joltrain, Bussaud & Weil, Sérodiagnostic mycosique. Ann. Pasteur, T. 24, 1, **1910**.

[1] Widal & Nobécourt, Dissociation de la propriété immunisante et de la propriété agglutinante. Compt. rend. soc. Biol., **1897**, p. 842.

[2] — — Séroréaction dans une infection paracolibacillaire. Sem. méd., **1897**.

[1] Widal & Sicard, Sur les affections paratyphoidiques et le sérodiagnostic de la fièvre typhoide. Soc. méd. des hôp., **1896**.

[2] — — Sérodiagnose par le sang desséché. Compt. rend. soc. Biol., **1897**, p. 20.

[3] — — Etude sur le sérodiagnostic et sur la réaction agglutinante, chez les typhiques. Ann. Pasteur, T. 11, 392, **1897**.

[4] — — Différenciation du bacille typhique et du bacille de la psittacose par la réaction agglutinante. Compt. rend. soc. Biol., 28. XI. **1896**.

[5] — — La mensuration du pouvoir agglutinant chez les typhiques. Compt. rend. soc. Biol., **1897**, p. 186.

[6] — — Pouvoir agglutinatif des animaux au sang froid. Compt. rend. soc. Biol., 27. XI. **1897**.

[7] — — Soc. méd. des hôp., **1896**, p. 655 et 15. I. **1897**.

[8] — — La réaction agglutinante sur les bacilles morts. Bull. de l'acad. de méd., 29. IX. **1896**; Compt. rend. soc. Biol., 30. I. **1897**.

Wilde, Ueber den Bac. pneumon. Friedl. und verwandte Bakterien. Inaug.-Diss., Bonn **1896** und Wien. klin. Wochenschr., **1897**, S. 439.

Winterberg, H., Untersuchungen über das Typhusagglutinin etc. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 32, **1899**.

Wladimiroff, Ueber Agglutination bakterienfreier Filtrate von Rotzkulturen. Petersb. med. Wochenschr., **1900**.

Woithe, Eine Präzisionsvorrichtung für Meßpipetten. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 28, 401.

Wolf, S., Beiträge zur Lehre der Agglutination mit besonderer Bezugnahme auf die Coli- und Proteusgruppe. Centralbl. f. Bakt., Bd. 25, 311, **1899**.

Wolff, B., Beiträge zur Agglutinationstechnik. Inaug.-Diss., Berlin; Ref. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., **1909**, S. 613.

Wretowski, Zwei neue Agglutinationsmethoden. Centralbl. f. Bakt., Bd. 47, 513, **1908**.

[1] Wright, A. E., A note on the serum reaction of tuberc. with special reference to the intimate nature of agglutination reactions. Lancet, 9. V. **1903**.

[2] — Note on the technique of serum diagnosis of acute specific fevers. Brit. med. journ., Vol. 1, 139, **1897**.

[1] Wright & Semple, Remarks on vaccination against typhoid fever. Brit. med. journ., 30. I. **1897**, p. 719.

[2] — — On the employment of dead bacteria in the serum diagnosis of typhoid and Malta fever. Brit. med. journ., Vol. 1, 1214, **1897**.

[1] Wright & Smith, On the application of the serum test to the differential diagnosis of typhoid and Malta fever. Lancet, 6 march **1897**.

[2] — — On the application of the serum test to the differential diagnosis of typhoid and Malta fever. Lancet, 6 march **1898**.

[3] — — On the occurence of Malta fever in India. Brit. med. journ., 10 avril **1898**.

Wrzosek, Recherches sur les voies de passage des microbes du tube digestif etc. Bull. ac. sc. Cracov., Nov. **1903**.

Wyssokowitsch, Rapport sur les travaux de M. Wyssokowitsch etc. par Raus. Acad. de méd., Paris, 13. VII. **1897**.

Wyssokowitsch & Zabolotny, Ann. Pasteur, T. 11, **1897**, Nr. 7.

Zabolotny, Notiz in Deutsche med. Wochenschr., **1897**, S. 392.

Zammit, Brit. med. journ., Vol. 1, 315, **1900**.

Zangger, H., Deutungsversuch der Eigenschaften und der Wirkungsweise der Immunkörper. Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., Bd. 34, 428, **1903** und Korrespondenzbl. f. Schweiz. Aerzte, **1904**.

Zängerle, Agglutinierende Fähigkeit des Blutes bei einem gesunden Kind einer typhuskranken Mutter. Münch. med. Wochenschr., **1900**, Nr. 26.

Želenski, Zur Agglutination der Streptokokken. Wien. klin. Wochenschr., **1904**, S. 406.

Ziemke, Zur Serodiagnostik des Typhus abdominalis. Deutsche med. Wochenschr., **1897**, Nr. 15.

Zlatogoroff, Zur Morphologie und Biologie der Mikroben der Bubonenpest etc. Centralbl. f. Bakt., Bd. 37, **1904**.

Zsigmondy, Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 40.
[1] Zupnik, Erfahrungen über die Gruber-Widalsche Reaktion und Agglutination bei Typhus abdominalis. Zeitschr. f. Heilk., Bd. 22.
[2] — Widalsche Serumreaktion bei Weilscher Krankheit. Münch. med. Wochenschr., **1902**, S. 1305.
[3] — Ueber verschiedene Arten von Paratyphen und Fleischvergiftungen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 52, **1906**.
Zupnik & Posner, Typhus und Paratyphus. Prag. med. Wochenschr., **1903**.
Zupnik & Spät, Ueber den Nachweis der Antigene und des Gegenkörpers im Blute von Typhuskranken. Berl. klin. Wochenschr., **1908**, S. 1796.
Zwick, Ueber den Erreger des infektiösen Abortus des Rindes. 4. Tagung der freien Vereinig. f. Mikrobiologie; Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 47, Beiheft, S. 219, **1910**.
Zwick & Weichel, Zur Frage des Vorkommens von sogenannten Fleischvergiftungserregern etc. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 33, 279, **1910**.

VII.

Die Lehre von den Phagocyten und deren experimentelle Grundlagen.

Von

Elias Metschnikoff

in Paris.

Mit 7 farbigen Figuren im Text.

I. Einleitung.

Wenn man die pathogenen Mikroorganismen in ihren Beziehungen zu den Krankheitsprozessen untersucht, so stößt man in den allermeisten Fällen auf Reaktionserscheinungen seitens des Organismus, bei welchen amöboïde Zellen ein sehr große Rolle spielen.

Es kommt nur selten vor, daß das Eindringen pathogener Bakterien von deren schrankenloser Vermehrung gefolgt wird, wobei der erkrankte Organismus sich durchaus passiv verhält. Dazu gehören die virulentesten unter den pathogenen Mikroorganismen. So erzeugen die Coccobacillen der Hühnercholera, wenn sie unter die Haut von Kaninchen oder Tauben gelangen, eine schnell tödliche Krankheit, wobei die winzigen Bakterien sich sehr rasch vermehren und sich im ganzen Organismus ausbreiten, ohne eine Entzündung hervorgerufen zu haben. Am Orte des Eindringens dieser Mikroorganismen findet man eine ganz geringe Menge Flüssigkeit, welche von Coccobacillen wimmelt, von zelligen Elementen des eigenen Organismus aber vollkommen frei ist.

Wenn man dieselben Bakterien unter die Haut von Meerschweinchen einführt, so begegnet man ganz anderen Erscheinungen. Es bildet sich bald eine starke lokale Entzündung aus, wobei die anliegenden Blutgefäße eine ausgesprochene Hyperämie aufweisen und eine Flüssigkeit transsudieren, in welche eine ungeheure Anzahl Leukocyten einwandert. Unter diesen Bedingungen werden die Coccobacillen der Hühnercholera lokalisiert; sie gelangen nicht in die Blutbahn und erzeugen einen Abszeß am Orte der Verimpfung, worauf das Tier in den meisten Fällen vollkommen genest.

Die vergleichende Betrachtung dieser Erscheinungen, welche im Organismus auf das Eindringen eines und desselben Bakteriums folgen, können leicht zur Vermutung führen, daß die Entzündung, samt Transsudation und Exsudation von zelligen Elementen, eine heilbringende Reaktion des Organismus darstellt.

Die sehr zahlreichen Untersuchungen, welche in den letzten achtundzwanzig Jahren ausgeführt wurden, haben diese Vermutung vollkommen bestätigt.

Nachdem es definitiv festgestellt wurde, daß die Infektionskrankheiten von Mikroorganismen herrühren, welche in den menschlichen und tierischen Organismus von außen eingeführt werden, glaubte man allgemein, daß, sobald diese Parasiten in den lebenden Körper eindringen, der letztere unbedingt erkranken muß. Durch diesen Gedanken geleitet, wollte man in der Praixs unbedingt das Eindringen pathogener Keime vermeiden. Dies suchte man durch Karbolsäurespray bei den Operationen, durch alle möglichen Desinfektionsmittel bei den verschiedensten Krankheiten zu erreichen.

Unter solchen Verhältnissen war es eine große Ueberraschung, als man fand, daß zahlreiche pathogene Bakterien, wie Staphylokokken, Streptokokken, Pneumokokken, Diphtheriebacillen und Choleravibrionen im gesunden Organismus vorkommen können, ohne geringste Krankheitserscheinungen hervorzurufen.

Die ätiologische Richtung in der Medizin hat eine Zeitlang zu der Annahme geführt, daß die cellulären Veränderungen im Organismus eine nur ganz untergeordnete Rolle spielen. Es hat sich sogar ein gewisser Antagonismus zwischen der mikrobiologischen Pathologie und der Cellularpathologie in der Wissenschaft gebildet. Es hat aber nicht lange gedauert, bis es anerkannt wurde, daß die zelligen Elemente eine ganz hervorragende Bedeutung bei den Infektionskrankheiten haben.

Nachdem schon PANUM[1] und ROSER[2] die Vermutung geäußert hatten, daß den weißen Blutkörperchen eine gewisse Rolle in der Befreiung des Organismus von pathogenen Keimen zukommt, konnte ich[3] durch zahlreiche Tatsachen den Beweis bringen, daß Leukocyten und andere bewegliche Zellen imstande sind, pathogene Mikroorganismen aufzufressen und abzutöten. Dadurch wurde festgestellt, daß diesen Elementen sowohl bei der Immunität gegenüber Infektionskrankheiten, als bei den Heilungsprozessen, eine ganz eminente Bedeutung zukommt. Die dabei beteiligten Zellen, welche sämtlich amöboide Protoplasmaausläufer besitzen und für die Aufnahme von Fremdkörpern befähigt sind, wurden von mir als Phagocyten (von φαγεῖν und κύτος) bezeichnet.

Im folgenden soll die Naturgeschichte der Phagocyten in ihrer Beziehung zur Lehre von den pathogenen Mikroorganismen behandelt werden. Die erste Frage, welche uns dabei interessiert, ist die über die Verbreitung der Phagocyten in der Natur. Diese Zellen können an der Konstitution verschiedenster Tierorganismen, mit Einschluß des menschlichen, beteiligt werden; sie können aber auch als selbständige Organismen auftreten. Im Pflanzenreich sind die Phagocyten nicht selten; hier können sie aber die größten Dimensionen annehmen.

II. Phagocytose in der Pflanzenwelt. Phagocytäre Verdauung bei niederen Tieren.

Unter den pilzförmigen Organismen gibt es eine Anzahl Repräsentanten, welche eigentümliche, meistens gestielte Körper darstellen. Die letzteren, Myxomyceten genannt, finden sich auf faulem Holze oder auf abgestorbenen Blättern und bestehen aus Sporangien, welche mit unzähligen runden Sporen erfüllt sind. Sobald die letzteren in günstige Bedingungen treten, d. h. wenn sie genügende Feuchtig-

keit haben, so schlüpfen aus ihnen geißeltragende einzellige Zoosporen aus, um sich in der umgebenden Flüssigkeit zu verbreiten. Diese winzigen Organismen sind den verschiedensten flagellaten Infusorien durchaus ähnlich und können sehr leicht für solche gehalten werden. Bei aufmerksamer Beobachtung sieht man diese Zoosporen sich in amöboide Wesen verwandeln und, was noch viel auffallender ist, sich miteinander verschmelzen. Es entstehen dadurch die sogenannten Plasmodien, d. h. nackte Protoplasmamassen, welche oft eine auffallende Größe aufweisen und mehrere Fuß lang werden können. In dieser Gestalt erscheinen die Myxomycetenplasmodien als die größten, überhaupt in der Natur existierenden nackten Protoplasmaanhäufungen, welche für die verschiedenartigsten biologischen Untersuchungen ganz besonders geeignet sind.

Unter gewissen Bedingungen verwandeln sich die Plasmodien in eine große Anzahl Sporangien, wobei die Protoplasmamasse in den Sporeninhalt übergeht.

Für unsere Zwecke sind es die nackten beweglichen Plasmodien, welche das größte Interesse haben. Sie sind imstande, eine ganze Reihe verschiedener Empfindungen zu offenbaren und auch feste Nahrungsstoffe aufzunehmen und in ihrem Innern zu verdauen.

Durch sehr genaue Versuche haben die Botaniker nachweisen können, daß die Plasmodien die Feuchtigkeit ihrer Umgebung zu fühlen imstande sind. In ihrem vegetativen Stadium fliehen die Plasmodien die Trockenheit und wenden sich nach feuchten Stellen. Wenn sich z. B. ein Plasmodium auf einem abgestorbenen Blatte befindet und die Oberfläche des letzteren, auf welchem der Schleimpilz liegt, zu trocknen anfängt, so siedelt das Plasmodium auf die untere, feuchte Fläche desselben Blattes oder auf ein benachbartes, feucht gebliebenes Blatt über. Wenn es dagegen zur Periode der Sporenbildung kommt, wird die Empfindlichkeit des Plasmodiums eine ganz andere. Anstatt feuchte Stellen aufzusuchen, wendet sich dasselbe den trockenen zu. Unter diesen Umständen kriechen die im Innern der feuchten Masse abgefallener Blätter befindlichen Plasmodien auf deren trockene Oberfläche, oder auf andere benachbarte trockene Gegenstände, z. B. auf die abgefallenen Zweige der Sträucher und Bäume. Der positive Hydrotropismus wird dabei in einen negativen umgewandelt.

Stahl[4], welcher diese Entdeckung gemacht hat, fand auch eine sehr ausgesprochene Empfindlichkeit der Myxomycetenplasmodien für die chemische Zusammensetzung des Mediums vor, mit welchem sie in Berührung sind. So werden diese Organismen sehr stark durch Dekokte aus abgestorbenen Blättern angezogen, während andere Substanzen, wie Zucker- resp. Salzlösungen, einen entgegengesetzten Effekt ausüben. Nach der geläufigen, durch den berühmten Botaniker Pfeffer eingeführten Nomenklatur besitzen die Plasmodien eine positive Chemotaxis gegenüber den pflanzlichen Aufgüssen, eine negative Chemotaxis dagegen gegenüber den verschiedensten chemischen Substanzen.

Durch ihre Empfindlichkeit geleitet, nähern sich die Plasmodien denjenigen Lösungen, welche ihnen zur Nahrung dienen, entfernen sich aber von solchen, welche für ihr Leben mehr oder weniger schädlich sind. Indessen sind diese physiologischen Eigenschaften nicht unabänderlich. So verwandelt sich die positive Chemotaxis in negative in den Fällen, wenn die Plasmodien nicht mehr wachsen und sich

zur Fruchtbildung bereiten. Auf der anderen Seite kann auch die negative Chemotaxis in positive umgewandelt werden. Dies geschieht, wenn die Plasmodien ganz allmählich an verschiedene Substanzlösungen gewöhnt werden. Wenn man Plasmodien von Physarum in eine 0,25-proz. Lösung von Chlornatrium versetzt, werden dieselben zunächst abgestoßen. Nach wenigen Stunden kehren sie indessen zurück und führen ihre Protoplasmaausläufer in die Salzlösung ein. Unter solchen Umständen gewöhnen sie sich allmählich auch an stärkere, etwa 0,5-proz. Lösungen desselben Salzes. Die ursprüngliche negative Chemotaxis wandelt sich demnach in eine entschieden positive um.

Die Plasmodien der Myxomyceten sind imstande, nicht nur flüssige Nahrung, wie Pflanzenaufgüsse, sondern auch solide Fremdkörper in sich aufzunehmen. Dabei werden die letzteren von Protoplasmaausläufern umgeben, so daß binnen kurzer Zeit diese Fremdkörper ganz ins Innere der Plasmodien gelangen. Wenn man diese nackten Pilzmassen mit verschiedenartigsten, mit Karminpulver bestreuten festen Substanzen in Berührung bringt, wird man schon nach wenigen Minuten eine Menge davon im Inneren der wie Lava fließenden Protoplasmaströme wahrnehmen. Unter solchen aufgefressenen Fremdkörpern kann man auch eine Menge verschiedenster mikroskopischer Organismen, pflanzlicher wie tierischer Natur, auffinden.

Die Tatsache ist mehrmals festgestellt worden, daß Plasmodien lebende Organismen mit Leichtigkeit in sich aufnehmen können. So hat PFEFFER[5] dasselbe für lebende Algen (Pandorinen und Diatomeen) konstatiert. Nach einem kurzen Verweilen im Inneren der Plasmodien wurden diese Organismen noch im lebenden Zustande nach außen abgestoßen. CELAKOWSKY jun.[6] hat diese Tatsache bestätigt, auf Grund mannigfaltiger und sehr genauer Untersuchungen. Er sah auch mehrere Algen längere Zeit ihr Leben im Inneren von Plasmodien (von Chondrioderma difforme, Didymium microcarpum und Aethalium septicum) bewahren. Aber er fand auch, daß viele von den aufgenommenen Organismen darin abgetötet und verdaut werden. So konstatierte er, „daß die nach 2—3-tägigem Aufenthalt im Plasmodium wieder freigegebenen Exemplare von Navicula und Nitzschia insgesamt oder größtenteils abgestorben erschienen, obzwar ausschließlich lebende Zellen zur Aufnahme geboten worden" (S. 203).

Die prinzipiell wichtige Tatsache, daß Myxomycetenplasmodien imstande sind, wirklich lebende Organismen aufzufressen, steht über allen Zweifel. So waren die aufgenommenen Euglenen oft lange Zeit imstande, ihre charakteristischen zuckenden Bewegungen im Innern von Plasmodien auszuführen. Die Euglenen zogen sich dabei zu Kugeln zusammen und streckten sich dann wieder aus, ihre normale Fischform annehmend. Indessen mit der Zeit nahmen „die Bewegungen der Euglenen innerhalb des Plasmodiums an Energie allmählich ab, und am dritten Tage sah CELAKOWSKY bereits eine beträchtliche Anzahl Individuen starr und unbeweglich" (S. 207). Lebende Infusorien (Colpoda cucullus) „gerieten oft in das Plasmodium und setzten daselbst ihre drehenden Bewegungen unbehindert fort" (S. 209). Einige Kolpoden konnten dann in Ruhestand übergehen und wiesen sogar Teilungszustände im Innern der Plasmodien auf.

Bakterien werden auch sehr häufig von Plasmodien lebend aufgenommen. Einige gehen dabei bald zugrunde und werden dann

mehr oder weniger vollständig verdaut, wie es A. LISTER[7] festgestellt hat. Einige Bakterien bleiben aber längere Zeit am Leben. So hat CELAKOWSKY Fadenformen von Bacillus subtilis beobachtet, welche nach 6 Stunden ausgestoßen wurden und welche nach weiteren 8 Stunden die charakteristischen Sporen in ihrem Innern bildeten.

Die von Plasmodien aufgenommenen Fremdkörper werden meistens unter deren Einfluß mehr oder weniger stark verändert. Das Chlorophyll wird braun verfärbt und der Zellinhalt der aufgefressenen Organismen koaguliert und degeneriert körnig.

Bei der Untersuchung der Plasmodien auf ihre verdauende Wirkung hat KRUKENBERG[8] bereits vor mehr als 30 Jahren ein pepsinartiges Ferment entdeckt, welches Eiweißsubstanzen in saurem Medium zur Auflösung brachte. Ich konnte später[9] nachweisen, daß sich im Innern der Plasmodien Nahrungsvakuolen bilden, welche eine ausgesprochen saure Flüssigkeit enthalten, unter deren Mitwirkung das Pepsin von KRUKENBERG seine verdauende Wirkung entfalten kann. Um sich von dieser Tatsache zu überzeugen, braucht man nur blaue Lackmuskörner in Berührung mit frischen Plasmodien zu setzen. Kurze Zeit darauf wird man rot verfärbte Körner im Innern von roten Vakuolen wahrnehmen. Sobald man auf ein solches Präparat einen gewissen Druck ausübt, wird der saure Inhalt der Vakuolen vom Protoplasma berührt, wobei die roten Körner sofort ins Blaue verfärbt werden, da ja das Protoplasma bekanntlich stets alkalisch reagiert.

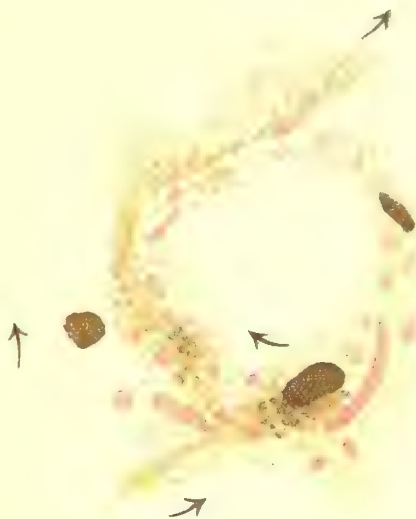


Fig. 1. Ein Stück Plasmodium von Physarum, unter dem Einflusse einer 1-proz. Lösung von Neutralrot. → bezeichnet die Richtung der Protoplasmaströmungen.

Es ist leicht, sich ein Urteil über die Reaktion in den Nahrungsvakuolen der Myxomycetenplasmodien mit Hilfe der von EHRLICH eingeführten Neutralrotfärbung zu bilden. Mit einer 1-proz. Lösung dieser Substanz färben sich die Ingesta hellrosa (Fig. 1), was auf eine schwachsaure Reaktion hindeutet.

Nach neueren Untersuchungen von CELAKOWSKY ist das von Myxomycetenplasmodien stammende Enzym imstande, nicht nur in schwach saurem, sondern auch im neutralen und sogar im schwach alkalischen Medium Eiweißkörper zu verdauen. CELAKOWSY ließ Plasmodien koaguliertes Hühnereiweiß aufnehmen und konstatierte daraufhin, daß dieselben „auch bei völliger Abwesenheit der Bakterien, also aus eigenen Mitteln“ eine solche Nahrung „in Lösung überzuführen vermögen“ (S. 232). Diese Verdauung „ging jedoch ebenso schnell bei alkalischer wie bei sauerer oder neutraler Reaktion vor sich“ (S. 236). Es ist demnach der Schluß wahrscheinlich, daß das

aus Plasmodien stammende Enzym nicht als Pepsin aufzufassen ist, sondern zur Trypsingruppe gerechnet werden muß.

Die Myxomycetenplasmodien können auch eine gewisse verdauende Wirkung auf Stärke ausüben, welche jedoch nur wenig ausgesprochen ist.

Die intracelluläre Verdauung, wie sie uns die Myxomyceten aufweisen, kommt auch sonst vielfach im Pflanzenreiche vor. Seit lange hat man gewußt, namentlich bei den Orchideen, daß manche Zellen der Kortikalschicht der Wurzeln ganze Klumpen von Pilzfäden beherbergen. Dieser Befund wurde als eine Art „Symbiose" zwischen dem Pilze und den Orchideen gedeutet. Nach neueren Untersuchungen mehrerer Forscher, welche von Noël Bernard[10] zusammengefaßt wurden, hat es sich herausgestellt, daß sich zwischen beiden Pflanzen in vielen Fällen ein wirklicher Kampf ausbildet, wobei die Erscheinungen der Phagocytose außer Zweifel sind. Die Pilzfäden, welche ins Innere der Zelle eindringen, werden in vielen Fällen vom Protoplasma angegriffen und sehr oft gänzlich zerstört. In anderen Fällen ist es die Zelle der Orchideenwurzel, welche dem Angriffe seitens des Pilzes unterliegt. Oftmals bleiben beide Elemente am Leben und dann kommt es zu einer Symbiose zwischen dem Pilze und der Wurzelzelle.

Eine große Anzahl höherer Pflanzen, Kryptogamen sowohl wie Phanerogamen, weisen ganz analoge Erscheinungen auf, so daß nunmehr die Phagocytose in der Pflanzenwelt als allgemeine Regel angenommen werden kann.

In der Tierwelt ist die intracelluläre Verdauung ganz außerordentlich verbreitet. So sind schon die meisten Protozoën befähigt, fremde Festkörper in sich aufzunehmen und dieselben im Innern ihres Protoplasmas zu verdauen. Das bestbekannte Beispiel in dieser Beziehung ist die intracelluläre Verdauung der nackten Amöben, welche zu den einfachst gebauten und niedrigsten Organismen gehören.

Es ist seit geraumer Zeit bekannt, daß diese mikroskopischen Wesen, welche beständig ihre äußere Gestalt verändern, indem sie ihre Protoplasmaausläufer aussenden und wieder einziehen, mit großer Leichtigkeit verschiedene Fremdkörper aufzunehmen imstande sind. Man wußte auch schon, daß die Amöben sich in der Regel mit niedrigsten Pflanzen und Tieren ernähren. Oft findet man Amöben, welche ganze Algen, Infusorien oder Rädertierchen in ihrem Protoplasma enthalten. Die Verfärbung des Chlorophylls, sowie die körnige Degeneration des Inhalts, lassen keinen Zweifel darüber, daß es sich hier um eine wirkliche Verdauung handelt. Die gröberen Erscheinungen der letzteren, sowie die Ausleerung der Ingesta sind seit längerer Zeit genügend erforscht worden. Dagegen sind die feineren Vorgänge der Verdauung im Innern des Amöbenprotoplasmas erst jüngst zur Kenntnis gelangt.

Wie die Myxomycetenplasmodien, so sind auch die Amöben befähigt, unzweifelhaft lebende Nahrung aufzufressen. So ist es leicht, bewegliche Bakterien im Innern der Nahrungsvakuolen verschiedener Amöben zu beobachten. Celakowsky[6] sah im Innern eines Individuums von Amoeba limax ein kurzfädiges, knieförmig gebogenes Gebilde eingeschlossen, welches starke aktive Bewegungen ausführte. Dasselbe erwies sich als ein lebender Vibrio, ganz denjeni-

gen ähnlich, welche auch außerhalb des Plasmodiums herumtummelten. Bei anderen Amöben (Amoeba verrucosa) sah derselbe Autor „in ihrem Innern zahlreiche, teils lebende, teils in Verdauung begriffene Algen (meist Chlamydomonaden)" (S. 210).

Die Amöben sind überhaupt auf lebendige Nahrung angewiesen und viele von ihnen ernähren sich ausschließlich mit Bakterien. Es ist dadurch möglich geworden, reichliche Kulturen von Amöben zu erzeugen, indem man ihnen Massen von Bakterien zur Verfügung stellte. Es werden Agarkulturen verschiedener Bakterien hergestellt, von welchen zahlreiche Amöben leben und sich fast ungehindert vermehren. Oft bekommt man solche Amöbenkulturen mit mehreren Bakterienarten gemischt; bisweilen gelingt es aber massenhaft Amöben zu züchten in Gemeinschaft mit nur einer einzigen Species von Bakterien. Die letzteren müssen meistens im lebenden Zustande Amöben dargereicht werden; indessen ist es Tsujitani[11] gelungen, Amöbenkulturen zu erzeugen, welche ausschließlich auf Kosten durch Wärme abgetöteter Vibrionen sich entwickelten.

Wenn Amöben längere Zeit an eine einzige Bakterienspecies gewöhnt werden, so erlangen sie die Fähigkeit, solche Bakterien noch außerhalb des Amöbenkörpers zu Klumpen zu agglutinieren. Diese Tatsache ist von Mouton[12] für Amöben beschrieben worden, welche während mehrerer Generationen ausschließlich mit Colibacillen ernährt wurden. Bei solchen Amöben werden die in die Nähe ihrer pulsierenden Vakuole gelangenden Colibacillen rasch zu größeren Haufen vereinigt. Dadurch werden die Bakterien mit Leichtigkeit in ganzen Mengen aufgenommen. Indessen ist diese Bedingung nicht unumgänglich notwendig für die Nahrungsaufnahme, indem dieselben Amöben einzelne, nicht zu Haufen zusammengeklebte Staphylokokken aufnehmen; auch andere Amöben sind imstande, einzelne isolierte Colibacillen ohne Mühe aufzufressen.

Die aufgenommenen Bakterien werden dann im Inneren des Amöbenkörpers in Vakuolen eingeschlossen und einem Verdauungsprozeß unterworfen. Seit längerer Zeit ist es gelungen, in diesen Nahrungsvakuolen das Vorhandensein einer schwachsauren Flüssigkeit zu konstatieren. Am besten kann dieser Nachweis durch Hinzufügen eines Tropfens Neutralrotlösung beigebracht werden. Die von Amöben aufgenommenen Bakterien werden dabei kirschrot gefärbt, was auf eine saure Reaktion hindeutet. Mouton beobachtete, daß von Hefezellen, welche von Amöben aufgefressen wurden, einige ungefärbt blieben, die anderen dagegen sich mit Neutralrot intensiv rot färbten. Die letzteren befanden sich schon im Zustande der Verdauung.

Amöbenkulturen, in großem Maßstabe angelegt, haben Mouton Veranlassung gegeben, eine Reihe sehr interessanter Untersuchungen über die verdauenden Enzyme der Amöben anzustellen.

Die wässerige Lösung dieser Enzyme übt eine ausgesprochen verdauende Wirkung sowohl auf die Gelatine, als auf geronnenes Fibrin aus. Das Eieralbumin wird ebenfalls, obwohl wenig, angegriffen. Diese Verdauung wird am schnellsten im neutralen Medium vollzogen, kann aber auch bei schwach alkalischer und auch schwach saurer Reaktion stattfinden. Wenn die Alkalinität den Grad, bei welchem das Phenolphthaleïn verfärbt wird, übersteigt, dann hört die Enzymwirkung auf. Die letztere bleibt aber bestehen, wenn

der Lackmus eine neutrale und sogar eine schwach saure Reaktion aufweist. Wenn die Flüssigkeit mit Methylorange eine saure Reaktion zeigt, dann ist die verdauende Wirkung der „Amibodiastase“ gleich Null.

Dieses Amöbenenzym wirkt bei verschiedenen Temperaturen; es verdaut besser, wenn das Thermometer 25° übersteigt, kann aber auch bei viel niedrigeren Temperaturen eine deutliche Wirkung ausüben. Dies ist um so weniger zu bewundern, als die Amöben ja meistens in unseren Breiten in ziemlich kaltem Wasser leben. Nur bei 8° wird die Enzymwirkung sehr stark verlangsamt, um darunter ganz stillzustehen.

Oberhalb von 50° fängt die Wirkung der Amibodiastase deutlich an abzunehmen, und bei 60° und darüber hört ihre Verdauungstätigkeit gänzlich auf. Es erhellt somit aus der Gesamtsumme der Erscheinungen, daß die Amibodiastase der Gruppe der Trypsine beigerechnet werden muß. Es kann wohl keinem Zweifel unterliegen, daß es dieses Enzym ist, welches in den Nahrungsvakuolen bei lebenden Amöben viele der aufgenommenen Fremdkörper und namentlich die kleinsten Organismen, darunter Bakterien, verdaut. Direkte, auf diesen Punkt gerichtete Untersuchungen von Mouton lieferten ihm die schlagendsten Beweise für diese Schlußfolgerungen. Wenn man zur wässerigen Lösung der Amibodiastase eine gewisse Menge verschiedener Bakterien, welche vorher durch Chloroform abgetötet wurden, zusetzt, so bekommt man eine trübe Flüssigkeit, welche binnen kurzer Zeit sich vollkommen aufklärt. Dabei quellen die Bakterienleiber, werden allmählich heller und lösen sich vollständig auf. Da dieser Prozeß genau in derselben Weise und unter denselben Bedingungen (Reaktion, Temperatur) verläuft, wie die Auflösung des Fibrins oder der Gelatine, so ist es sicher, daß es sich um die gleiche Verdauung mittels der Amibodiastase handelt.

Vergleichende Untersuchungen haben den Nachweis geliefert, daß bei dieser Auflösung der Bakterienleiber es sich unmöglich um eine Selbstverdauung der letzteren handeln kann. So ist die Wirkung der Amibodiastase am sichersten gegenüber Colibacillen, welche einer Selbstverdauungskraft vollkommen entbehren.

Es ist sehr bemerkenswert, daß es Mouton niemals gelang, eine Verdauung lebender Colibacillen durch die Amibodiastase zu erzielen. Man darf aber daraus noch durchaus nicht den Schluß ziehen, daß lebende Amöben imstande wären, sich ausschließlich mit toten Bakterien zu ernähren. Aus oben von Mouton sichergestellten Tatsachen hätte man vielleicht ersehen wollen, daß die zur Nahrung von Amöben dienenden Organismen erst außerhalb des Amöbenkörpers abgetötet werden müssen, um dann der Enzymwirkung innerhalb der Nahrungsvakuolen unterworfen zu werden. In der Wirklichkeit muß man eher annehmen, daß bei der Behandlung der Amöbenleiber behufs Darstellung der Amibodiastase, nur ein Teil der wirkenden Enzyme ins Freie gelangt, welcher nur hinreicht, um abgetötete Bakterien anzugreifen.

Das Suchen nach Enzymen, welche imstande wären, Stärke oder Fette zu verdauen, hat bis jetzt ausschließlich zu negativen Resultaten geführt. Es gelang bisher nur die proteolytische Amibo-

diastase zu erhalten, welche sicherlich eine große Analogie mit Plasmodienenzymen aufweist und welche ebenfalls sehr nahe verwandt mit Verdauungsfermenten anderer Protozoën ist.

Amöben, wie Wurzelfüßler (Rhizopoden) überhaupt, sind als echte Phagocyten aufzufassen, weil es lebende Wesen sind, welche Fremdkörper auffressen und dieselben intracellulär verdauen. Ueberaus die meisten Infusionstierchen müssen ebenfalls zur Kategorie selbstständig lebender Phagocyten mitgerechnet werden. Sowohl die geißeltragenden (Flagellata), als die höher stehenden wimpertragenden (Ciliata) Infusorien ernähren sich nur in seltenen Fällen ausschließlich mit außerhalb ihres Körpers aufgelösten Substanzen. Bei weitem die allergrößte Mehrzahl fangen lebende Nahrung auf, um dieselbe intracellulär, innerhalb der Nahrungsvakuolen, zu verdauen. Die höher als Rhizopoden organisierten Infusorien besitzen eine Mundöffnung, durch welche die feste Nahrung in das Innere des Protoplasmaleibes befördert wird, wo sie, von einer Flüssigkeit umgeben, als kleine Klumpen innerhalb der Vakuolen auftritt. Die aufgenommenen Körper werden nur teilweise verdaut, so daß eine große Menge Exkremente gebildet wird, welche durch eine präformierte Afteröffnung nach außen ausgestoßen werden.

Es ist schon seit geraumer Zeit bekannt, daß die Nahrungsvakuolen bei Infusorien eine deutlich saure Reaktion besitzen. Die aufgenommenen Lackmuskörner werden binnen kurzem rot verfärbt; die Alizarinsulfosäure zeigt ebenfalls eine ausgesprochene saure Reaktion, indem sie einen zitronengelben Farbenton annimmt. Mit Neutralrot werden die Vakuolen sofort purpurrot gefärbt, was dieselbe Bedeutung hat. Dies ist die Regel für die größte Mehrzahl der Infusorien, wie es sehr leicht an Vorticellen und Paramäcien beobachtet werden kann. Diese Regel ist aber keine absolute. Bei einigen Infusorien, wie z. B. bei Nassula elegans, weisen die Nahrungsvakuolen eine unzweifelhaft alkalische Reaktion auf. Es genügt auf einen Tropfen Wasser, in welchem lebende Nassula schwimmen, etwas einprozentiger Neutralrotlösung hinzufügen, um die meisten Nahrungsvakuolen alsbald deutlich braun zu färben. Dieser braune Farbenton ist eben sehr charakteristisch für Alkalien. (Fig. 2.[15])

Nirenstein[13] konnte feststellen, daß die Reaktion innerhalb der Nahrungsvakuolen stark wechseln kann. Anfangs sauer, kann sie bald deutlich alkalisch werden. Er glaubt, daß ausgeschiedene Säure zur Abtötung aufgenommener Bakterien und anderer, zur Nahrung dienender Organismen dient, während das Alkali die verdauende Wirkung eines intracellulären Enzyms befördert.

Was diese Enzyme betrifft, so konnte ein solches erst vor wenigen Jahren von Mesnil und Mouton[14] aus dem Leibe von Paramäcien dargestellt werden.

Während die meisten Protozoën als selbständig lebende Phagocyten aufgefaßt werden müssen, müssen die größte Mehrzahl mehrzelliger Tiere (Metazoën) als Organismen in Anspruch genommen werden, welche eine mehr oder weniger größere Menge Phagocyten enthalten. Tiere, welche solcher Freßzellen vollkommen entbehren, sind jedenfalls als seltene Ausnahmen zu betrachten. Bei vielen Wirbellosen ist das gesamte Verdauungsepithel des Intestinaltractus aus sessilen Phagocyten zusammengesetzt. Dazu gehören Schwämme

(Spongien), die meisten Nesseltiere (Cölenteraten) und Strudelwürmer (Turbellarien). Die aufgenommene Nahrung wird entweder von einzelnen mit amöboïden Ausläufern versehenen Epithelphagocyten aufgenommen, oder die letzteren verschmelzen miteinander, um einen größeren Fremdkörper vollständig zu umwickeln. Es entstehen dabei wahre Plasmodien, welche auffallend an die Plasmodien der Myxomyceten erinnern. Die auffallendsten Beispiele kann man bei Siphonophoren und den sog. Turbellaria Acoela beobachten. Die ersteren sind ausgesprochene Raubtiere, welche mit ihren Nesselfäden befähigt sind, verschiedene Seetiere, z. B. ganze Crustaceen, aufzufangen und in ihre Verdauungsorgane zu befördern. Unter solchen Bedingungen wird die Nahrung von einer ganzen Reihe amöboider Entodermphagocyten umflossen, welche sich zu sehr großen Protoplasmamassen verschmelzen, in denen die Verdauung vollzogen wird. Bei den Acoela besteht der Darm aus einem wahren Plasmodium, d. h. er wird repräsentiert durch eine Masse vollständig miteinander verschmolzener Zellen, von denen nur die Kerne einzeln bleiben. Das gesamte Bild ähnelt durchaus dem Endoplasma höherer Infusorien, mit welchem der Acölendarm in früheren Zeiten mehrmals verglichen wurde.

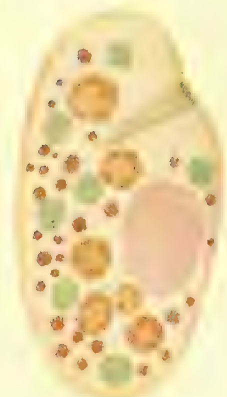


Fig. 2. Nassula elegans mit einer 1-proz. Lösung von Neutralrot behandelt.

Von den Vorgängen der intracellulären Verdauung bei Wirbellosen sind diejenigen, welche sich in Entodermphagocyten der Aktinien abspielen, am besten bekannt. Diese schönen Seetiere fangen ihre Beute mittelst ihrer Tentakeln und verschlucken dieselbe in eine umfangreiche Verdauungskammer, welche mit einer Menge sog. Mesenterialfäden versehen ist. Die Mesenterialfäden sind mit einem dem Entoderm angehörigen Epithel ausgekleidet, welches lange Protoplasmafortsätze aussendet, die zur Aufnahme der Nahrungspartikelchen dienen.

Seit lange suchte man den Mechanismus der Verdauung bei Aktinien näher zu eruieren; man konnte aber zu keinem sicheren Schlusse kommen, da es unmöglich war, in deren Verdauungshöhle wirksame Verdauungssäfte aufzufinden. Erst später[12] gelang es mir festzustellen, daß die Aktinien ihre Nahrung gar nicht mit Hilfe abgesonderter Sekrete, sondern ausschließlich intracellulär verdauen. Wenn man Krebsmuskel oder andere Nahrung, mit Karminpulver bestreut, Aktinien darreicht, so wird man kurze Zeit darauf Bruchstücke der Muskelfasern nebst Karminkörnchen im Innern der Entodermzellen von Mesenterialfäden auffinden. Diese zelligen Elemente müssen demnach als echte Phagocyten aufgefaßt werden.

Wenn man anstatt Karminpulver einige feine Körnchen von blauem Lackmus hinzusetzt, so wird man bald darauf Mesenterialfäden rosa oder violett gefärbt sehen. Diese Reaktion beweist uns, daß die intracelluläre Verdauung bei Aktinien im schwach sauren Medium erfolgt.

MESNIL[15], welcher eine genauere Untersuchung über die Verdauungstätigkeit der Exkrete aus Mesenterialfäden anstellte, gelang

es, unzweideutig ausgesprochene Fermentwirkungen derselben zu konstatieren. Diese Extrakte sind besonders wirksam den Albuminoïdsubstanzen gegenüber. Fibrin und geronnenes Eiweiß können von denselben sowohl im neutralen, als im schwach sauren oder schwach alkalischen Medium verdaut werden. Das dabei wirksame Enzym, mit dem Namen Aktinodiastase bezeichnet, erinnert auffallend an Amibodiastase und an andere zur Trypsingruppe gehörende Enzyme.

Die Aktinodiastase verdaut gut bei 15—20°, d. h. einer Temperatur, bei welcher Aktinien in der freien Natur ihre Nahrung ausnutzen. Aber die günstigste Temperatur bei den Versuchen in vitro hat sich bei 36°—45° ergeben. Höhere Temperaturen üben eine abschwächende Wirkung aus und bei 55°—60° hört die Verdauung mittelst Aktinodiastase, ebenso wie es für Amibodiastase der Fall war, vollkommen auf. Unter den Produkten der Verdauung mit Mesenterialfädenextrakten hat man außer Peptonen noch Tyrosin und Proteïnchromogene aufgefunden.

Durch die Versuche an Amöben und Aktinien hat man den besten Beweis dafür geliefert, daß die intracelluläre Verdauung eine ausgesprochen enzymatische ist, die sich von der gewöhnlichen Verdauung bei höheren Tieren hauptsächlich dadurch unterscheidet, daß die verdauenden Fermente nicht nach außen ausgeschieden werden, sondern im Innern der dieselben produzierenden Zellen zur Wirkung gelangen.

Unter den niederen Tieren haben für die Lehre der Phagocyten die Spongien eine ganz hervorragende Bedeutung, da bei diesen Wirbellosen die verdauende Tätigkeit der Phagocyten sich nicht nur auf intestinale Epithelien, sondern auch auf bewegliche Bindegewebszellen der mittleren Körperschicht ausdehnt. Durch die starken Wimperbewegungen der geißeltragenden Entodermzellen wird bei Spongien ein rascher Fluß gebildet, welcher dazu dient, um kleine im Wasser suspendierte Körper in den Organismus der Spongien zu befördern. Dabei werden kleinere Gegenstände, wie einzellige Algen oder andere niedere Organismen, ins Innere sowohl der Entodermzellen aufgenommen, als auch von zahlreichen amöboïden Mesodermelementen aufgefressen. Es ist sehr auffallend, daß diese zwei Hauptschichten, Entoderm und Mesoderm, nicht streng voneinander geschieden sind, so daß Fremdkörper mit Leichtigkeit aus der „Darmhöhle“ in das Stützgewebe des Körpers eindringen. Es ist etwa so, als ob die von uns aufgegessene Nahrung aus dem Darminhalte in die Bauchhöhle und in die Lymphgefäße ungestört passierte.

Während nun die intracelluläre Verdauung im Epithel des Darmkanals sich nur bei niederen Wirbellosen konserviert hat, bei höheren Wirbellosen (Arthropoden, die meisten Würmer und Weichtiere), sowie bei sämtlichen Wirbeltieren dagegen durch extracelluläre Verdauung ersetzt wurde, hat sich die verdauende Funktion der beweglichen Mesodermzellen in dem gesamten Tierreiche, den Menschen nicht ausgeschlossen, erhalten. Die Entodermphagocyten haben allmählich die Fähigkeiten verloren, Fremdkörper ins Innere aufzunehmen und in den Nahrungsvakuolen zu verdauen; sie haben sich zu Drüsenzellen umgewandelt, welche die von ihnen bereiteten Verdauungssekrete nach außen ausscheiden. Mit dem Aufhören der Phagocytentätigkeit haben die Darmepithelzellen auch ihre Fähigkeit, amöboïde

Ausläufer auszusenden, verloren. Die intracelluläre Verdauung ist unter solchen Bedingungen zu einer extracellulären geworden.

Im Bereiche des Mesoderms sind dagegen die ursprünglichen Verhältnisse bestehen geblieben. Die von außen stammende Nahrung kann bei den meisten Tieren nicht mit Leichtigkeit ins Mesodermgebiet gelangen, wie es für Spongien die Regel ist, da die Verdauungsorgane bei ersteren sich streng abgesondert haben. Trotzdem finden die Amöboidzellen des Mesoderms Gelegenheit genug, verschiedene feste Körper in sich aufzunehmen und dieselben in ihrem Innern ganz ebenso zu verdauen, wie es Amöben oder Entodermphagocyten der Aktinien gegenüber verschiedenen Nahrungsstoffen tun. Nehmen wir an, daß durch einen kleinen Riß in der Darmwand etwas Nahrung in die Bauchhöhle gelangt ist. Sofort sammeln sich um die Fremdkörper eine Menge Amöboidzellen an, welche durch verschiedenartige Leukocyten repräsentiert werden und nun werden die aus der Nahrung stammenden Bestandteile durch diese Phagocyten aufgenommen und soweit wie möglich umgeändert, verdaut. Dieser Prozeß wird gewöhnlich als „Resorption" bezeichnet, aber ist im Grunde genommen nichts anderes als eine intracelluläre Verdauung im Innern von beweglichen Mesodermzellen.

Wenn bei einer chirurgischen Operation Catgutfäden in den menschlichen Organismus eingenäht werden, so werden sie binnen kurz oder lang ebenfalls „resorbiert". Das genaue Studium der dabei stattfindenden Vorgänge beweist sehr deutlich, daß es sich wieder um eine intracelluläre Aufnahme resp. Verdauung von Fremdkörpern im Innern der mesodermalen Phagocyten handelt.

Damit dem Leser kein Zweifel mehr bleibt, daß die Resorptionsvorgänge sich einfach auf die intracelluläre Verdauung seitens der Phagocyten reduzieren, ist es notwendig, etwas näher auf die dabei stattfindenden Erscheinungen einzugehen.

III. Rolle der Phagocyten bei der Resorption korpuskulärer Elemente.

Die mannigfachsten Resorptionserscheinungen fester Körper kommen im menschlichen sowohl wie im tierischen Körper alltäglich vor. So sehen wir in jedem Milzpräparate eine Menge sog. blutkörperchenhaltiger Zellen, welche nichts anderes sind als mit roten Blutkörperchen angefüllte amöboide Pulpazellen der Milz. In den Lymphdrüsen ist der gleiche Befund ebenfalls sehr häufig. Die Mesenterialdrüsen sind oft rot oder rosa gefärbt, da sie eine Menge solcher blutkörperchenhaltiger Amöboidzellen enthalten. Bei größeren oder kleineren Blutergüssen, sowohl unter der Haut als in den Körperhöhlen, werden die ausgeflossenen Blutkörperchen von den amöboidbeweglichen Leukocyten aufgenommen und in ihrem Innern mehr oder weniger vollständig aufgelöst.

Neben solchen, zwar sehr häufigen oder fast konstanten Resorptionserscheinungen, welche indessen eine Art Zufall repräsentieren, fehlt es nicht bei niederen wie bei höheren Tieren, inklusive den Menschen, an solchen, welche einen vollkommen normalen, physiologischen Charakter dokumentieren. So erleiden viele Wirbellosen und Wirbeltiere eine mehr oder weniger vollkommene Metamorphose ihres Kör-

perbaues und ihrer inneren Organisation, wobei viele Organe und Gewebe durch Resorption zugrunde gerichtet werden.

Am einfachsten sind diese Erscheinungen bei niederen Wirbellosen zu eruieren. Zuerst sind sie von mir bei Echinodermen, namentlich Holothurien, untersucht. Man weiß seit den epochemachenden Entdeckungen von Johannes Müller[16], daß die schwerfälligen, auf dem Meerboden stille lebenden Holothurien, oder Seewalzen, im Larvenzustande als sehr zierliche, durchsichtige und auf der Meeresoberfläche schwimmende Tierchen auftreten. Beim ersten Blick hätte man ebensowenig diese, als Aurikularien bezeichneten Larven für einen Jugendzustand der Holothurien, wie etwa schwerfällige Raupen für Schmetterlingslarven halten können. Und trotzdem ist es unwiderruflich festgestellt worden, daß Aurikularien sich wirklich in Holothurien verwandeln. Dabei gehen viele Larvenorgane, namentlich die mit Wimperhaaren ausgestatteten flügelförmigen Gebilde, vollständig verloren. Dies geschieht in der Weise, daß eine Menge Wanderzellen, welche zeitlebens in der Leibeshöhle nach Art der Lymphkörperchen leben, an die Wimperorgane herannahen und sie mit großer Schnelligkeit auffressen. Die dabei stattfindenden Vorgänge lassen sich am besten mit der Nahrungsaufnahme und der intracellulären Verdauung seitens der Amöben vergleichen. Der Verlust der Bewegungsorgane hat zur Folge, daß die verwandelten Aurikularien zum Meerboden fallen und dort eine für sie ganz neue Lebensweise zu führen anfangen.

Nachdem der wesentliche Vorgang der Metamorphose der Echinodermen (Holothurien, Seesterne u. a.) auf eine Resorptionstätigkeit seitens der Phagocyten zurückgeführt wurde, konnte man auch das Studium anderer Verwandlungserscheinungen in der Tierreihe angreifen. In dieser Beziehung sind die besten Ermittlungen über die Metamorphose verschiedener Insekten gewonnen worden.

Die gewöhnlichen Fliegen eignen sich sehr für derartige Untersuchungen. Die jedem so wohlbekannten Fliegenmaden verpuppen sich mit großer Schnelligkeit, wobei der größte Teil der Larvenorgane zugrunde geht und sich in eine rahmartige Masse verwandelt. Fast vor 50 Jahren hat der berühmte Freiburger Zoologe Weismann[17] die Metamorphose der Dipteren beschrieben und dabei eines merkwürdigen Phänomens, das er als Histolyse bezeichnet hat, Erwähnung getan. Mehrere innere Organe, namentlich die quergestreiften Muskeln, zerfallen in eine Art Blastem, aus welchem sich dann neue Zellen bilden. Es entstehen Konglomerate dieses Blastems, sog. Körnchenkugeln, welche keinen Nucleus besitzen. Dieser bildet sich erst später, und zwar, nach der Annahme von Weismann, durch eine Art Generatio aequivoca, worauf nun neue Gewebe sich entwickeln.

Es ist wohl der letzte Versuch gewesen, Zellen nicht aus vorhergehenden zelligen Elementen, sondern aus einer unorganisierten Substanz herzuleiten, in Widerspruch mit der berühmten These Virchows „Omne cellula e cellula“. Fast zwanzig Jahre blieben die von Weismann beschriebenen merkwürdigen Tatsachen unaufgeklärt, bis nun fast gleichzeitig A. Kowalewsky[18] und van Rees[19] dieselben im Sinne der Phagocytenlehre gedeutet hatten. Die Körnchenkugeln der Fliegenpuppen haben sich als kernhaltige Leukocyten erwiesen, welche sich mit einer Menge Gewebepartikeln vollgefressen haben.

Die Histolyse besteht nach diesen Autoren durchaus nicht in einem Zerfallen unnütz gewordener Gewebe in ein unförmiges Blastem, sondern in einer Aufnahme bestimmter Gewebeteile durch aktiv wirkende, amöboïde farblose Blutkörperchen.

Ein solches Resultat hätte vorausgesagt werden können nach den bei der Metamorphose der Holothurien und Seesterne konstatierten Tatsachen. In beiden Fällen werden gewisse Organe durch Phagocytose vernichtet und intracellulär verdaut.

Im Laufe der letzten Decennien entstand nun eine ganze Literatur über die Verwandlung der Insekten, in welcher man die Frage über das Verschwinden der Larvenorgane auf das lebhafteste diskutierte.

Einige Forscher äußerten sich in dieser Beziehung ganz im Geiste der Theorie der Phagocyten, indem sie annahmen, daß die inneren Organe, welche bei der Metamorphose zugrunde gehen, von diesen Freßzellen resorbiert werden. Andere Beobachter, unter welchen ich Korotneff[20], Karawaieff[21], Noetzel[22], Terre[23] und Berlese[24] zitiere, konnten den Phagocyten eine untergeordnete oder sogar gar keine Bedeutung vindizieren. Nun kompliziert sich die Sache dadurch, daß es in einigen Fällen, wie z. B. bei Fliegen, Leukocyten sind, welche verschiedene Larvenorgane, wie Muskeln, Speicheldrüsen u. a. auffressen, während bei anderen Insekten die Phagocytose durch besondere sessile Phagocyten bewerkstelligt wird. So werden die quergestreiften Muskelfasern in einigen Beispielen nicht durch eingewanderte Leukocyten, sondern durch sarkoplastische Muskelelemente selbst vernichtet. Es gibt sicherlich auch Fälle, wo beiderlei Phagocytenarten, d. h. sowohl Leukocyten, als auch Sarkoplasmazellen an der Vernichtung der quergstreiften Muskelsubstanz teilnehmen. Zoologen, welche bei der Metamorphose der Schmetterlinge, z. B. der Motten, nach ganz solchen Bildern suchten, wie diejenigen, welche van Rees und Kowalewsky bei der Fliege beobachteten, glauben in Widerspruch zur gesamten Lehre der Beteiligung der Phagocyten bei der Insektenmetamorphose auftreten zu müssen. Und dies mit Unrecht, weil sich die Sache dadurch aufklärt, daß bei Schmetterlingen es Muskelphagocyten sind, welche die Hauptrolle spielen.

Als Kowalewsky seine Fliegenuntersuchungen in Odessa im Jahre 1883 begann, konnte er zunächst ebenfalls keiner Phagocytose gewahr werden. Aber ein so geübter und scharfer Beobachter konnte nicht lange im Irrtum bleiben. Bald fielen ihm die in die Muskelsubstanz eingewanderten Leukocyten auf und verhalfen ihm binnen kurzem die ganze Frage im positiven Sinne zu erledigen. Ich selbst war Zeuge bei diesen Untersuchungen. Die Präparate von Kowalewsky waren so mustergültig und seine Resultate so sichergestellt, daß es nun ganz unnütz wäre, auf die Einzelheiten der Arbeiten unerfahrener Anfänger einzugehen, welche die von ihnen beobachteten Bilder nicht richtig auffaßten. Deshalb wollte Kowalewsky nie mehr, trotz mehrfacher Widersprüche, den Gegenstand von neuem bearbeiten.

Ganz in den letzten Jahren sind einige monographische Arbeiten über die Metamorphose der Insekten erschienen, die wir hier kurz erwähnen wollen. So hat Anglas[25] die Verwandlung der Wespen und Bienen einer Bearbeitung unterworfen, welche ihn zu dem Resultate

führte, daß es, neben Phagocytose, noch eine eigentümliche extracelluläre Auflösung der Larvenorgane gebe, welche er mit dem Namen „Lyocytose“ bezeichnete. Dieses Phänomen soll darin bestehen, daß viele zellige Elemente durch die von Nachbarzellen sezernierten Verdauungsenzyme zugrunde gerichtet werden. In der ganzen Arbeit von Anglas finden wir aber gar keinen Beweis für die Richtigkeit seiner Anschauung. Als dieser Forscher uns von derselben überzeugen wollte, zeigte er uns Präparate, wo auf Schnitten einzelne Fettkörperzellen kernlos erschienen. Es ist jedermann bekannt, daß große Zellen, wie die soeben erwähnten, auf Schnitten ohne Kern erscheinen können, wenn eben der Schnitt zu dünn ist, um die ganze Zelle zum Vorschein zu bringen. Anglas schloß aber aus solchen Bildern, daß die Zelle ihres Kernes durch „Lyocytose“ verlustig wurde, wobei er indessen nicht imstande war, irgendwelche Zwischenstadien der Kernverdauung zu demonstrieren.

Etwas später hat ein anderer französischer Forscher, Vaney[26] in Lyon, eine Arbeit über die Metamorphose der Dipteren veröffentlicht, in welcher er zu beweisen versucht, daß das Verschwinden der Larvenorgane bei diesen Insekten zum Teil durch Phagocytose, zum Teil aber durch eine direkte Auflösung stattfinden kann. Die letztere Art beschreibt er namentlich bei mückenartigen Zweiflüglern, bei welchen die Metamorphose lange nicht so vertieft ist, wie bei den eigentlichen Fliegen. Uebrigens gibt auch Vaney durchaus keinen Beweis für die Existenz der direkten Organauflösung, die er nur aus dem Nichtauffinden der Phagocytose schließt.

Ich brauche mich nicht länger bei der Kritik dieser Arbeiten aufzuhalten, da dieselbe sehr ausführlich und gewissenhaft durch C. Pérez[27] gemacht wurde. Dieser Forscher hat die Metamorphose der Ameisen (Formica rufa) und der Fliegen (Calliphora erythrocephala) erschöpfend untersucht und dabei eine Menge interessanter Tatsachen festgestellt, deren Richtigkeit er mir und Professor Mesnil in überzeugendster Weise demonstrieren konnte.

Die Erscheinung bei der Verwandlung der Ameisen (ich darf wohl sagen, der Hymenopteren überhaupt) sind lange nicht so durchgreifend, wie diejenigen, welche bei der Fliegenmetamorphose stattfinden. Und trotzdem ist die Phagocytose dabei in hervorragender Weise beteiligt. Pérez kommt zu dem Schlusse, daß „die Phagocytose ein allgemeiner Vorgang der Zerstörung ganz spezialisierter innerer Organe, welche bei der Metamorphose verschwinden, zu sein scheint. Die Fälle, wo sie vermißt wird, sind diejenigen, wo wenig spezialisierte Organe sich von neuem anpassen, ohne zerstört zu werden, und welche deshalb in den definitiven Organismus übergehen. Im Grunde genommen, die Phagocytose kommt nicht zur Erscheinung in den Fällen, wo es keine Histolyse gibt“ (p. 387). Was die Ameisen im besonderen betrifft, so konnte Pérez „sich überzeugen, daß die Fettkörperzellen verschwinden und in diesem Falle zur Beute der Phagocyten werden; oder sie bleiben bestehen und dann werden die in ihnen aufgespeicherten Reservestoffe im Innern der Fettzellen selbst durch eine intracelluläre Verdauung verbraucht. Aber auch in diesem Falle kann keine Rede von einer Histolyse ohne Phagocytose sein.“

Es ist nicht zu bezweifeln, daß einige äußere Anhänge, wie Schwanzfäden, Antennen u. dergl., bei der Metamorphose direkt abgestoßen werden können, ohne daß dabei die Phagocytose irgend eine

Rolle zu spielen braucht. Es ist ferner auch richtig, daß Darmepithelien direkt in das Darmlumen abgestoßen werden. Aber solche Tatsachen können nicht im geringsten den Schluß beeinträchtigen, daß die bei der Metamorphose zugrunde gehenden inneren Organe auf dem Wege der Phagocytose zum Verschwinden gebracht werden.

Die Allgemeingültigkeit der Phagocytose bei der Verwandlung der Wirbellosen kann noch durch deren Beteiligung bei der Zerstörung der Larvenorgane der Ascidien (KOWALEWSKY), der Phoronis (ROULE) und einiger Crustaceen (CAULLERY und MESNIL) unterstützt werden.

Was die Wirbeltiere anbetrifft, so ist das beste Beispiel einer sehr durchgreifenden Metamorphose durch die Batrachier (Kröten, Frösche u. dergl.) geliefert. Es ist deshalb nicht zu verwundern, daß seit dem Beginne meiner Phagocytenstudien ich ein ganz besonderes Augenmerk auf die Resorption des Kaulquappenschwanzes richtete. Ich muß gestehen, daß a priori ich erwartete, dabei eine der Entzündung sehr ähnliche Erscheinung zu treffen. Ich glaubte, daß folglich die Atrophie der Schwanzmuskeln durch eine starke Einwanderung dieser weißen Blutkörperchen eingeleitet werden müßte. Meine auf diesen Punkt gerichteten Untersuchungen konnten indessen diese Vermutung durchaus nicht bestätigen. Ich war weder imstande eine Randstellung, noch eine Diapedese der Leukocyten im Schwanze der Kaulquappen zu beobachten. Trotzdem konnte ich mit Leichtigkeit mich von der Tatsache überzeugen, daß die vergehenden Larvenmuskeln durch eine unzweifelhafte Phagocytose zugrunde gerichtet werden. In meiner ersten diesbezüglichen Veröffentlichung[28] beschränkte ich mich nur auf die Mitteilung dieser Ermittlung. Erst später konnte ich den Nachweis bringen[29], daß bei der Zerstörung der quergestreiften Kaulquappenmuskeln eigentümliche Muskelphagocyten ins Werk treten. In mikroskopisch noch durchaus normalen Muskelfasern findet man eine Vergrößerung der Zahl der Muskelkerne nebst dem dieselben umgebenden sog. Sarkoplasma. Auf einmal fangen nun diese Gebilde an, das quergestreifte Myoplasma aufzufressen, was ein Zerstückeln des ganzen Muskels in eine Anzahl kernhaltiger Sarkoplasten zur Folge hat. Schließlich werden die aufgefressenen Muskelbruchstücke intracellulär verdaut, worauf die freibeweglichen Muskelphagocyten in den Lymphsack des Peritoneums übergehen.

Obwohl diese Erscheinungen ohne Mühe und mit der größten Präcision ermittelt werden können, so entstand doch eine ganze Polemik gegen meine Schlußfolgerungen. Zuerst äußerte LOOS[30] die Meinung, daß die Phagocytose bei der Froschmetamorphose nur eine ganz unbedeutende Rolle spiele, indem über 90 Proz. der Muskelfasern durch direkte Auflösung in den Körpersäften zugrunde gerichtet werden. Später kam BATAILLON[31] mit einer Reihe Publikationen zu dem Resultate, daß Phagocyten, welche als echte Leukocyten aufzufassen wären, nur ganz sekundär an der Muskelvernichtung teilnehmen, während die Muskelfasern ganz primär, unabhängig von Phagocyten zur Degeneration gebracht werden.

Um dieser Polemik ein Ende zu bringen, brachte ich in die Pariser biologische Gesellschaft (Société de Biologie) eine Sammlung meiner diesbezüglichen Präparate und bat die Mitglieder, welche sich ein endgültiges Urteil machen wollten, dieselben mit den in derselben Sitzung demonstrierten Präparaten von BATAILLON zu vergleichen. Es war nicht schwer, von der Richtigkeit der von mir angegebenen

Tatsachen zu überzeugen. Seitdem hielt ich für überflüssig, neuere Publikationen über den Gegenstand zu machen.

Meine eigenen Untersuchungen über die Metamorphose der Stachelhäuter und der Amphibien, sowie das Beschauen mikroskopischer Präparate von Kowalewsky und Pérez, die Insektenmetamorphose betreffend, ließen bei mir keinen Zweifel darüber, daß die Phagocytose eine ganz allgemeine Bedeutung bei der Resorption von Larvenorganen bei der Verwandlung hat. Anderweitige Ermittelungen über die physiologischen Resorptionsvorgänge konnten diese Schlußfolgerungen nur noch stärker unterstützen, so daß an der Tatsache selbst zu zweifeln unmöglich geworden ist.

Nun wäre es höchst wichtig zu ermitteln, aus welchem Grunde die Larvenorgane binnen kurzer Zeit den Phagocyten zum Opfer fallen. Solange man annehmen konnte, daß die vergänglichen Gewebe zuerst erheblich geschädigt werden und erst dann von Phagocyten aufgefressen werden, mußte man nach Ursachen dieser Abschwächung suchen. Es hat sich aber ergeben, daß, soweit ein Urteil nur möglich ist, ganz intakte Muskeln und Drüsen auf einmal von Phagocyten angegriffen werden, so daß bisweilen eine Hälfte des Muskels noch vollkommen ihre normale Beschaffenheit behält, während die andere Hälfte desselben Faserbündels bereits von Phagocyten angegriffen wird. Es ist deshalb der Gedanke nicht abzuweisen, daß Phagocyten in eine gewisse Aufregung gelangen können, wodurch sie anfangen verschiedene Gewebsteile der Larve anzugreifen. Es entsteht somit ein Kampf zwischen den Zellen, wobei nur diejenigen gegen die Phagocyten widerstehen, welche irgendein Mittel dazu haben. Oft schon ist die Vermutung ausgesprochen worden, daß sämtliche Zellen sich durch irgendwelche Ausscheidungen vor Phagocyten schützen müssen. Sobald diese Quelle versiegt, werden die verteidigungslosen Elemente unrettbar zur Beute der unersättlichen Phagocyten.

Daß der Organschwund bei der Metamorphose durch Phagocytose bewerkstelligt wird, steht fest genug. Daß es sich dabei um ein Beispiel von intracellulärer Verdauung handelt, ist ebensowenig zu bezweifeln. Wie aber dieser Vorgang zustande kommt, ist dagegen noch ganz unermittelt. Es ist höchst wahrscheinlich, daß es sich dabei um Enzymbildung im Innern von Phagocyten handelt, ganz ebenso wie wir es bei der intracellulären Verdauung bei Myxomceten, Amöben und Aktinien gesehen haben. Bis jetzt hat man aber diese Vermutung noch nicht durch direkte Tatsachen unterstützt. Es wäre sehr interessant (und wahrscheinlich auch nicht schwer), an massenhaft angelegter Zucht von Fliegenpuppen die Existenz von phagocytären Enzymen zu demonstrieren.

Andere physiologische Erscheinungen, bei welchen atrophische Vorgänge regelmäßig vorkommen, weisen ebenfalls auf bedeutende Phagocytosis hin. So werden bei der Uterusinvolution nach dem Wochenbette eine Menge rückbildender Elemente durch reichlich eingewanderte Phagocyten aufgefressen und verdaut. Es geschieht dabei eine wahre Metamorphose der Gebärmutterwandung, mit Wachstum neuer Teile und Atrophie älterer Gewebe. So z. B. hat Helme[32] bei der Rückbildung der Muskelschicht eine Beteiligung der Phagocyten bei der Resorption zelliger Elemente beobachtet. Indessen, soviel ich weiß, ist dieses Kapitel noch ungenügend bearbeitet worden.

Man hat mehr Erfahrung über die Erscheinungen der senilen Atrophie, welche ebenfalls in die Kategorie physiologischer Vorgänge meistens eingerechnet wird. Bei höheren Tieren, wie beim Menschen, wird der ganze Organis-

mus bis zu einem gewissen Grade rückgebildet und dessen gesamte Höhe wie das Gewicht einzelner Organe werden im hohen Alter erheblich vermindert.

Bei der histologischen Untersuchung seniler Organe ist es schon seit lange aufgefallen, daß deren spezifische Elemente durch Bindegewebe stark ersetzt werden. So werden bei der Involution der Eierstöcke Eizellen allmählich rückgebildet, während auf ihrer Stelle eine Menge Follikelzellen erscheinen, welche sich schließlich in Bindegewebe umwandeln. Die feineren Vorgänge dieser Atrophie sind in den letzten Jahren mehrmals untersucht und auf ein Auffressen seitens der Phagocyten zurückgeführt worden. So hat Matschinsky[33] in einer in meinem Laboratorium ausgeführten Arbeit die Erscheinungen genauer verfolgt, unter welchen die Eizellen verschiedener Säugetiere von umgebenden Elementen der Granulosa ganz oder teilweise verzehrt werden.

Bei den bei seniler Atrophie so hervorragenden Rückbildungserscheinungen der Nervencentra werden Nervenzellen von anliegenden fremdartigen Elementen aufgefressen. Die in hohem Alter vergrößerte Neuroglia liefert sicherlich phagocytäre Zellen, welche an der Atrophie der edlen Elemente des zentralen Nervensystems beteiligt sind. Während nun einige Autoren meinen, daß diese Phagocytose ausschließlich durch Neurogliazellen vollzogen wird, glauben andere vielmehr, daß dabei nur die aus dem Blute eingewanderten einkernigen Phagocyten eine Rolle spielen. Diese Frage ist zu schwierig, um ganz endgültig entschieden zu werden. Es scheint mir wahrscheinlich, daß bei der Phagocytose der Nervenzellen sowohl Neurogliaelemente, als Leukocyten mitwirken.

Von einigen Autoren ist die Beteiligung der Phagocytose bei der senilen Rückbildung der Nervenelemente in Zweifel gezogen worden. So hat Marinesco[34] eine Reihe Beobachtungen mitgeteilt, nach welchen die senilen Nervencentra beim Menschen gar keine Neurophagie aufweisen sollen. Zum Beweis schickte mir Herr Marinesco eine Anzahl Präparate von senilen Rückenmarken, auf welchen allerdings von einer Phagocytose so gut wie gar nichts zu sehen war. Indessen muß es nicht außer acht gelassen werden, daß es gerade das Gehirn ist, an welchem die senilen Rückbildungserscheinungen am meisten hervortreten. Und nun der erste Fall, den ich untersuchen konnte, zeigte mir schon, ganz entgegen der Meinung von Marinesco, ganz hervorragende Phagocytosebilder. Es handelte sich um das Gehirn einer über 90 Jahre alten Frau, welches ich mit Herrn Weinberg zu untersuchen bekam. Auf vom letzteren sorgfältig präparierten Schnitten aus mehreren Regionen der großen Hemisphären konnte man eine sehr große Menge im Auffressen betroffener Nervenzellen wahrnehmen. In der letzten Zeit habe ich das Gehirn einer über 90 Jahre alten Frau untersucht. Die Sektion ist wenige Stunden nach dem Tode vorgenommen und die Organe im besten Zustande erhalten worden. Nun war es sehr leicht, eine ausgiebige Neuronophagie der Nervenzellen der Gehirnwindungen durch Neurogliaelemente wahrzunehmen. Dasselbe konnte ich bei einem an Erysipelas gestorbenen 87-jährigen Greis konstatieren. Diese Befunde können unter anderem dazu dienen, um die Einwände seitens mehrerer Pathologen zu entkräftigen. Hansemann[35], sein Schüler Saigo[36] und Ribbert[37] behaupten, daß die Neuronophagie der Nervenzellen in keiner bestimmten Beziehung zur senilen Degeneration steht, weil diese Erscheinung bei manchen Greisen fehlt, während sie dagegen bisweilen bei jungen Leuten zum Vorschein kommt. Es ist natürlich nicht ausgeschlossen, daß es alte Menschen geben kann, bei denen das Gehirn sich gut erhalten hat, wie denn überhaupt die senilen Erscheinungen eine sehr starke individuelle Variabilität aufweisen. Man weiß, daß es neben Greisen, welche in intellektueller Beziehung sehr stark heruntergekommen sind, auch andere gibt, welche bis 100 Jahre und darüber noch eine hohe geistige Entwickelung offenbaren.

Auf der anderen Seite können junge Leute, welche Infektionen zum Opfer gefallen sind, analoge Erscheinungen der Neuronophagie aufweisen, wie sie beim Altern regelmäßig vorkommen.

Um diesen Satz zu bekräftigen, brauche ich nur auf die Befunde bei an Tollwut erkrankten Hunden hinzuweisen. Vor mehreren Jahren haben van Gehuchten und Neliss zur Diagnostik dieser Krankheit nach dem Tode die Untersuchung der Nervenzellen von Spinalganglien vorgeschlagen. Diese Zellen weisen nämlich bei der Rabies eine sehr starke Neuronophagie durch umliegende runde Elemente auf. Nun konnte später Vallée[38] feststellen, daß genau solche Degenerationserscheinungen auch bei alten Hunden regelmäßig vorkommen, weshalb man bei der Feststellung der Diagnose auf diesen Umstand besonders aufmerksam sein muß.

Bei alten Tieren, Hunden, sowohl wie Pferden, Mäusen, Papageien *), ist die Phagocytose der Nervenzellen sehr stark ausgesprochen.

In anderen Organen des senilen Organismus findet man ähnliche Rückbildungserscheinungen, welche indessen viel schwächer ausgesprochen sind. Bei alten Hunden konnte PORCHER[39] in den Nieren multiple ausgesäte Herde beobachten, welche aus ein- und mehrkernigen Phagocyten bestanden. Sie bildeten einen Zentralpunkt, aus welchem Nierensklerose sich entwickelte. Herr PORCHER übergab mir seine ganze Sammlung Nierenpräparate, an welchen ich mich von der Richtigkeit seiner Angaben leicht überzeugen konnte.

Die bei der senilen Atrophie so allgemeinen Erscheinungen der Phagocytose, welche zur Bindegewebsentartung führt, lassen auf einen Lebenskampf zwischen den edlen Elementen und den niedriger stehenden Phagocyten schließen. Man kann denken, daß, sowohl die ersten durch irgendwelche Schädlichkeit abgeschwächt werden, es ihnen sofort unmöglich wird, gegenüber den Angriffen der überall vorhandenen Phagocyten standzuhalten. Es ist auch in der Tat sehr wahrscheinlich, daß die senile Phagocytose oft ihren Grund in der funktionellen Abschwächung edler Elemente hat. Es ist möglich, daß die letzteren aufhören ihre Schutzsubstanzen auszuscheiden, worauf sie dann von Phagocyten überfallen werden. Aber es ist auch an eine andere Möglichkeit zu denken. Durch irgendwelche Reize stimuliert, können die Phagocyten verstärkt werden und in diesem Zustande noch lebensfähige edle Zellenelemente angreifen. Für diese Eventualität, deren wir schon bei der Besprechung der Metamorphoseerscheinung Erwähnung taten, spricht besonders das Weißwerden der Haare, welches eins der auffallendesten und frühesten Senilitätsphänomene darstellt.

Es konnte von uns[40] festgestellt werden, daß Kopf- ebenso wie Barthaare dadurch weiß werden, daß ihr Pigment von besonderen Phagocyten aufgenommen und weggeschleppt wird. Die Markschicht der Haare beim Menschen, und bei Säugetieren überhaupt, enthält eine ganze Reihe von Zellen, welche lange Zeit ruhig und bewegungslos bleiben. Und nun auf einmal, bei beginnendem Altern, verfallen diese Markzellen, welche ich als Pigmentophagen bezeichnet habe, und die man noch besser als Chromophagen benennen kann, in eine Art Aufregung. Sie werden beweglich, indem sie Ausläufer aussenden, und wandern in die Rindenschicht der Haare ein, wo sie des ganzen Pigmentes habhaft werden. Bei den im Begriff des Weißwerdens befindlichen Haaren findet man nun ganze Züge solcher Phagocyten, welche sich in die Haut begeben und dorthin das von ihnen aufgenommene Pigment transportieren.

Der Mechanismus des Weißwerdens der Haare ist ganz derselbe beim Menschen und beim alten Hunde, was auf seine allgemeine Bedeutung hinweist. Zwei Punkte in dieser Erscheinung verdienen unsere ganz besondere Aufmerksamkeit. Es ist zunächst die Tatsache, daß es dabei unmöglich ist, an eine Abschwächung des Haarpigments zu denken, hervorzuheben. Die Pigmentkörnchen müssen als ganz passive Reservestoffe aufgefaßt werden und die dieselben beherbergenden Hornzellen der Rindenschicht der Haare sind wohl auch kaum als aktiv lebende Elemente anzusehen. Es ist deshalb viel wahrscheinlicher, daß es sich beim Weißwerden der Haare nicht um eine Abschwächung der Pigmentzellen handelt, sondern um eine starke Aufregung der Chromophagen, welche eine Art Pigmenthunger erleiden und infolgedessen das gesamte ihnen zugängliche Pigment auffressen.

Es liegt auf der Hand, daß dieser Hunger nach Pigment irgendeine materielle Ursache haben muß, so etwa wie das eigentümliche Verlangen chlorotischer Mädchen nach Kohle, Kreide und anderen unnahrhaften Substanzen. Vielleicht kommt es dabei zu einer Art Vergiftungserscheinung, indem die Chromophagen durch irgendwelche im Organismus bereitete Toxine stark aufgeregt werden.

Die Atrophie des Haarpigmentes ist noch von einem anderen Gesichtspunkte sehr interessant. Die nähere Untersuchung hat nämlich ergeben, daß Chromophagen aus der MALPIGHIschen Schicht stammen und folglich ein Beispiel echt ektodermaler Phagocyten darstellen. Dieser Fall ist wohl kein Unikum. Da es höchst wahrscheinlich ist, daß Neurogliazellen phagocytäre Funktion

*) Ich will die Gelegenheit benutzen, um auf die Tatsache aufmerksam zu machen, daß bei weißen Mäusen, ebenso wie bei Papageien, die senile Degeneration der Nervenzellen gänzlich ohne Pigmentablagerung erfolgt, was genügt, um die kürzlich von RIBBERT verteidigte Theorie des Alterns zu widerlegen.

ausüben und daß sie ektodermalen Ursprungs sind, so hätten wir hier ein zweites Beispiel von Ektodermphagocyten. Bei niederen Tieren sind ähnliche Tatsachen schon lange bekannt und vor vielen Jahren konnte ich[3] bereits ektodermale Phagocytose bei Hydropolypen und Aktinien konstatieren.

Die hohe Bedeutung der phagocytären Tätigkeit bei den Vorgängen der physiologischen Atrophie berechtigen eine solche auch bei manchen Erscheinungen des pathologischen Gewebeschwundes anzunehmen. Wenn durch Inanition oder durch andere Ursachen verschiedene Zellenelemente in ihrem Umfange verringert werden, so braucht man hier natürlich gar nicht an eine Phagocytose zu denken. Wenn es sich dagegen um eine totale Zerstörung der Zellen und ihren Ersatz durch Bindegewebe handelt, so läßt sich in solchen Fällen gewiß eine Beteiligung der Phagocyten vermuten.

Bei verschiedenen Krankheiten des Nervensystems hat man sehr häufig die Atrophie der Nervenzellen durch Phagocytose beobachtet, und zwar in ganz ähnlicher Weise wie diejenige ist, deren wir bei der senilen Degeneration gedacht haben. Bei der progressiven Paralyse[41], bei Epilepsie[42], bei verschiedenen, durch Vergiftung hervorgerufenen Atrophien der Nervenzellen[43] hat man übereinstimmend, und zwar sehr häufig, Erscheinungen der Neuronophagie beobachtet, die darin bestehen, daß Nervenzellen von Phagocyten umgeben und zum progressiven Schwund gebracht werden. Mehrere Autoren, wie Krauss[44], Marinesco[45], Nissl[46], Anglade & Rispal[47] sind der Meinung, daß ausschließlich Neurogliazellen als Neuronophagen auftreten. Andere Forscher, unter denen wir Valenza[48], Pugnat[49], Orr & Cowen[50] zitieren können, nehmen an, daß diese Rolle von Leukocyten allein ausgeführt wird. Wie bei der senilen Atrophie, so ist es auch bei diesen pathologischen Vorgängen sehr schwer, die Stellung der Neuronophagen jedesmal mit Sicherheit zu bestimmen. Es ist wohl richtiger anzunehmen, daß beiderlei Elemente, d. h. Neurogliazellen sowohl wie weiße Blutkörperchen als solche Phagocyten auftreten können.

Bei der Atrophie der Nervenfasern ist die Aufnahme zerfallender Bestandteile durch besondere Zellen bereits vor vielen Jahren von Ranvier[51] beschrieben und seitdem durch viele andere Forscher bestätigt worden. Diese Vorgänge müssen ungezwungen als ein Beispiel von Phagocytose angesehen werden.

Die Erscheinungen der pathologischen Muskelatrophie lassen sich ebenfalls auf die Phagocytose zurückführen und nur von diesem Standpunkte können sie leicht verstanden werden. Bei Entartungen der quergestreiften Muskelfasern, welche im Laufe verschiedenster akuter und chronischer Krankheiten, wie Trichinose oder progressive Muskelatrophie, beobachtet wurden, hat man seit lange die Vermehrung der Muskelkerne als eins der hervorragendsten und frühesten Symptome beschrieben. Dabei wird auch das umgebende Protoplasma bedeutend vergrößert. Hand in Hand mit diesen Erscheinungen findet der Schwund der eigentlichen kontraktilen Substanz statt. Nun sind diese Vorgänge ganz mit denjenigen in Parallele zu setzen, welche bei der Metamorphose des Kaulquappenschwanzes oder in anderen Beispielen der physiologischen Muskelatrophie konstatiert wurden. Sie müssen deshalb alle beisammen in die Kategorie der Muskelphagocytose eingeschlossen werden, welche nicht durch hinzukommende Leukocyten, sondern durch das Sarkoplasma der Muskelfasern bewerkstelligt wird. Zur Zeit als ich diese Art der Phagocytose bei den Larvenmuskeln des Kaulquappenschwanzes untersuchte, bat ich meinen damaligen Schüler Soudakewitsch[52], die Muskelentartung bei experimenteller Trichinose vergleichend zu bearbeiten. Das Resultat dieser Arbeit hat eine wesentliche Uebereinstimmung beiderlei Erscheinungen ergeben.

Die pathologischen Atrophien anderer Organe, z. B. der Leber und Nieren, sind bis jetzt noch nicht hinreichend untersucht worden, aber aus dem bis jetzt angesammelten Materiale kann man bereits ersehen, daß auch hier die Vorgänge im großen und ganzen ähnlich verlaufen. Die bei Leber- und Nierencirrhose stattfindende Kleinzelleninfiltration muß wohl als eine Ansammlung junger einkerniger Phagocyten angesehen werden, welche durch abgeschwächte oder andersartig veränderte Drüsenzellen chemotaktisch angelockt werden. Die Freßzellen bemächtigen sich nun der edleren spezifischen Elemente und verwandeln sich schließlich in Bindegewebe. Es muß hier nämlich mit besonderem Nachdruck hervorgehoben werden, daß bei sämtlichen atrophischen Erscheinungen es sich stets um eine mononukleäre Phagocytose handelt. Seien es Leukocyten oder Neuroglia, oder auch Sarkoplasma und Zellen der Eierstockfollikel, stets sind es einkernige Elemente, welche andere Gewebszellen auffressen und zum Verschwinden bringen.

Diese fundamentale Tatsache läßt sich am besten auf experimentellem Wege nachweisen. Wenn man künstliche Hämorrhagien erzeugt, oder fremdartiges Blut oder Organbrei einem Tiere irgend wohin einführt, so wird man stets als Folge davon eine sehr ausgesprochene Einwanderung von mononukleären Phagocyten beobachten. Zum allergrößten Teil stammen diese aus dem Blute, resp. aus der Lymphe; es ist aber nicht ausgeschlossen, daß wenigstens eine gewisse Anzahl solcher Freßzellen auch anderen Ursprungs ist und etwa aus Endothelien, Pulpazellen der Milz, der Lymphdrüsen und des Knochenmarkes herstammen.

Es ist bereits vor längerer Zeit von LANGHANS[53] festgestellt worden, daß Blutextravasate durch amöboide Zellen resorbiert werden, welche sich um das ausgetretene Blut ansammeln. Später ist diese Angabe von allen Seiten bestätigt und das Resorptionsphänomen viel ausführlicher erforscht worden.

Wenn man einem Tiere etwas von seinem eigenen Blute in die Bauchhöhle einspritzt, so wird dasselbe einfach durch das Lymphgefäßsystem resorbiert, wobei Blutkörperchen direkt in den Kreislauf übergehen. Dasselbe kommt zustande, wenn man einem Tiere etwas Blut eines anderen Individuums derselben Species einführt. Phagocytose wird unter solchen Verhältnissen nur in geringem Grade wahrgenommen. Wenn man dagegen andere Zellenarten in die Bauchhöhle derselben Tierspecies einspritzt, so werden die eingeführten Elemente bald von den Phagocyten der Bauchhöhle aufgefangen und intracellulär verdaut. Am besten kann dieser Versuch mit Spermien gemacht werden, weil sie so leicht von anderen Zellen unterschieden werden können. Es genügt nun etwas Sperma in die Bauchhöhle eines Tieres derselben Species einzuspritzen, um bald darauf eine wahre Jagd der Phagocyten gegenüber den Spermien zu beobachten.

Beim Einspritzen fremdartigen Blutes oder fremdartiger Zellen überhaupt wird die Phagocytose binnen kurzem begonnen. Die Menge der Leukocyten in der Bauchhöhle erleidet zunächst eine starke Abnahme, die aber bald durch einen außerordentlichen Zuwachs dieser Zellen gefolgt wird. Unter den neu hinzukommenden Leukocyten kann man die verschiedenen Repräsentanten weißer Blutkörperchen unterscheiden; an der Phagocytose beteilen sich aber in ganz hervorragender Weise die einkernigen Phagocyten, welche man als Makrophagen bezeichnet.

Die Resorption eigener oder fremdartiger Zellelemente wird nur in sehr untergeordnetem Maße durch sogenannte polynukleäre Leukocyten (Mikrophagen) bewerkstelligt, da sie vorzugsweise das Werk von Makrophagen ist. Die letzteren sind imstande, eine sehr große Menge von Zellen aufzufressen und sie bis zum Verschwinden zu verdauen. Der intime Mechanismus dieser intracellulären Verdauung ist in den letzten Jahren eifrig untersucht worden; indessen sind noch viele denselben betreffende Fragen noch ungenügend bekannt. Es ist sehr wahrscheinlich, daß aufgefressene Zellen durch ein ungeformtes Ferment angegriffen werden, welches wir als Cytase bezeichnet haben. Um dieselbe genauer zu untersuchen, ist es ratsam, Extrakte aus solchen Organen zu bereiten, welche größtenteils aus Makrophagen bestehen. Bei Säugetieren sind es namentlich die Lymphdrüsen, das Epiploon und die Milz. Wenn man diese Organe fein zerreibt und mit physiologischer Kochsalzlösung behandelt, bekommt man feinkörnige

Emulsionen, welche rote Blutkörperchen verschiedener Wirbeltiere zur Auflösung bringen. Das Hämoglobin geht dabei in Lösung über, so daß nur Stromata und Kerne übrigbleiben.

Diese hämolytische Funktion der Makrophagenextrakte beruht auf einer besonderen Substanz, welche durch Erwärmen zerstört wird. Bringt man nämlich die Emulsion der Lymphganglien von Meerschweinchen auf 56° während einiger Zeit ($^3/_4$—1 Stunde), so verliert sie die Fähigkeit, rote Blutkörperchen aufzulösen. Da diese Eigenschaft sich im Blutserum wiederholt, welches ebenfalls durch Erwärmung auf 56° sein hämolytisches Vermögen einbüßt, so war es angezeigt, die Substanz der Makrophagenextrakte mit derjenigen des Blutes zu identifizieren. Auch habe ich die Meinung ausgesprochen, daß es sich in beiden Fällen um ein ungeformtes Ferment, Cytase, handelt. Da dieses Enzym aus Makrophagen stammt, habe ich dasselbe mit dem Namen Makrocytase bezeichnet.

Nun ist gleichzeitig von mehreren Seiten behauptet worden, daß die hämolytische Wirkung der Extrakte von Makrophagenorganen, namentlich von Lymphdrüsen, gar nicht durch thermolabile Cytasen, sondern durch ganz andere, nicht enzymartige Substanzen vollzogen wird. So haben Korschun & Morgenroth[54] behauptet, daß die hämolytische Substanz der Lymphdrüsen nicht nur die Erwärmung auf 56° erträgt, sondern sogar durch Siedehitze in ihrer Wirkung durchaus nicht beeinträchtigt wird. Außerdem fanden dieselben Autoren, daß diese Substanz in Alkohol löslich ist und sich durchaus verschieden von echten Cytasen (Alexinen oder Komplementen) verhält. Ganz unabhängig davon haben Sawtschenko & Berdnikoff[55] die Ansicht ausgesprochen, daß die hämolytische Substanz der Lymphdrüsenextrakte nichts mit wirklichen Cytasen zu tun hat. Donath & Landsteiner[56] und Domeny[57] sind derselben Meinung.

Alle genannten Autoren haben sich scharf gegen meine, durch meinen Schüler Tarassewitsch[58] unterstützte Auffassung ausgesprochen, nach welcher die Makrophagen der Lymphdrüsen und anderer phagocytären Organe ein thermolabiles Enzym besitzen, die Makrocytase, welche ins Blutserum übergeht und dem letzteren seine hämolytische Kraft verleiht.

Da meine Ansicht, sowohl wie diejenige meiner Gegner, durch positive Tatsachen gestützt wurde, so war es klar, daß die Kontroverse auf irgendeinem Mißverständnisse beruhen mußte. Dies zu erklären hat sich mein Schüler Levaditi[59] zum Ziele gestellt. Er wiederholte zuerst die Versuche nach meiner Methode, um später diejenige meiner Widersacher zu prüfen. Es hat sich dabei herausgestellt, daß, wenn man Lymphdrüsen von Meerschweinchen frisch behandelt und die Extrakte sofort auf ihre hämolytische Wirkung prüft, der Prozeß gerade so verläuft, wie ich es beschrieben habe[60]: fremde Blutkörperchen (ich benutzte diejenigen der Gans) werden binnen kurzem gelöst, wenn die Flüssigkeit vorher nicht erhitzt worden war. In dem Falle dagegen, wenn die letztere einer Temperatur von 56° unterworfen wurde, blieb die Auflösung vollständig aus.

In den Versuchen, wo Levaditi die Lymphdrüsenextrakte längere Zeit bereitete, indem er zerriebene Organe stundenlang in physiologischer Kochsalzlösung mazerieren ließ, wurde die Hämolyse durch besondere thermostabile Substanzen bewerkstelligt, welche sich genau

so verhielten, wie die von KORSCHUN & MORGENROTH, und anderen oben erwähnten Autoren beschrieben. LEVADITI glaubt, daß diese Substanzen in ihrer chemischen Natur verschieden und zum Teil Amidosäuren, zum Teil aber Fette, resp. Fettsäuren und Seifen sind.

Es hat sich somit herausgestellt, daß Makrophagen, d. h. die wirksamen Bestandteile von Lymphdrüsen und anderen phagocytären Organen, ein thermolabiles Enzym enthalten, welches eine Autolyse dieser Zellen bewirkt, wobei unter den neugebildeten Substanzen auch eine Reihe hämolytischer thermostabiler Stoffe entstehen.

Daß Lymphdrüsenextrakte wirklich eine Makrocytase erhalten, dies wurde von LEVADITI noch dadurch bewiesen, daß die ersteren fähig sind, die durch Erwärmung ihrer Wirksamkeit beraubten Blutsera vollständig zu reaktivieren.

Durch die kurz berichteten Versuche ist somit die Kontroverse in den Angaben verschiedener Forscher erledigt worden. Nichtsdestoweniger kann es nicht geleugnet werden, daß in dieser ganzen komplizierten und schwierigen Frage noch manche Punkte einer weiteren Untersuchung bedürfen. Jedenfalls muß es als sicher angenommen werden, daß die Makrophagen der Lymphdrüsen und anderer phagocytären Organe verschiedene zellige Elemente, darunter rote und weiße Blutkörperchen, gierig auffressen und einer völligen Verdauung unterwerfen, wobei thermolabile lösliche Enzyme eine hervorragende Rolle erfüllen.

Vor kurzem hat KLING[61] versucht, die Frage über die hämolytischen Substanzen der Makrophagen durch neue Versuche weiter zu fördern. Indessen erwiesen sich seine Extrakte als unwirksam, was nur die Unzulänglichkeit seiner Technik beweist.

Die Makrophagen sind befähigt, die Resorption zelliger Elemente nicht nur in lymphoïden Organen, sondern auch in Exsudaten zu bewerkstelligen. Es wäre deshalb sehr interessant, die letzteren in bezug auf ihre hämolytischen Eigenschaften zu untersuchen. Bekanntlich enthalten frisch erzeugte Exsudate viel mehr Mikrophagen (sog. polynukleäre Leukocyten) als Makrophagen; ältere, mehrere Tage alte Exsudate sind im Gegenteil viel reicher an einkernigen Leukocyten. Bei der Untersuchung solcher, vorzugsweise makrophagenhaltiger Exsudate, konnte TARASSEWITSCH in einigen Fällen eine ausgesprochene hämolytische Fähigkeit konstatieren. Leider waren diese Resultate wenig konstant, was wohl darauf beruht, daß in den Fällen, wo Makrophagen reichlich vorkommen, dieselben größtenteils mit Mikrophagen beladen und deshalb wenig befähigt sind, ihre Cytase an die Flüssigkeit abzugeben. Jedenfalls muß in dieser Richtung noch weiter geforscht werden.

Bei Tieren, denen man mehrmals fremdartiges Blut einspritzte, blieb die hämolytische Fähigkeit von Extrakten der Makrophagenorgane (Milz, Epiploon, Lymphdrüsen) unverändert. Es war unmöglich, dabei irgendwelche Anreicherung der hämolytischen Substanz zu konstatieren. Auffallende Veränderungen konnte man dagegen in der Blutflüssigkeit, resp. im Blutserum solcher Tiere wahrnehmen.

In den Fällen, wo das Blutserum normaler Tiere keine hämolytische Eigenschaften aufweist, wird eine solche erworben, nachdem man ein oder mehrere Male fremdartiges Blut solchen Tieren einspritzt. Wenn dagegen normale Tiere bereits imstande sind, fremdartige rote Blutkörperchen aufzulösen, so wird diese

hämolytische Fähigkeit viel stärker ausgesprochen, wenn man solche Tiere mit fremdartigem Blute behandelt. Diese fundamentalen Tatsachen sind zuerst in genauer Weise von J. Bordet[62] in meinem Laboratorium untersucht worden. Dieser Forscher konnte feststellen, daß es sich bei dieser Hämolyse um ein Zusammenwirken von zwei Substanzen handelt, welche beide im Blutserum aufgelöst sind. Eine davon — Alexin — findet sich in gleicher Menge im Blutserum normaler und mit fremdartigem Blute behandelter Tiere vor. Es ist eine in chemischer Beziehung unbestimmte Substanz, welche schon bei 55—56° in ihrer Wirkung vollständig zerstört wird. Ihre Labilität ist so bedeutend, daß schon ein Verweilen außerhalb des Organismus binnen wenigen Tagen genügt, damit das Blutserum seine hämolytische Wirksamkeit verliert.

Außer dem Alexin gibt es im Blutserum der mit fremdartigem Blute vorbehandelten Tiere eine andere Substanz, welche von Bordet unter dem Namen der sensibilisierenden Substanz (substance sensibilisatrice) bezeichnet wurde. Dieselbe ist viel widerstandsfähiger als das Alexin gegenüber der Erhitzung sowohl, wie gegen viele andere schädliche Einflüsse. Sie bleibt deshalb unverändert in solchen erhitzten oder längere Zeit außerhalb des Organismus bleibenden Sera, welche kein Alexin mehr enthalten.

Die sensibilisierende Substanz ist von Ehrlich & Morgenroth[63] ausführlich untersucht worden, wobei sie feststellen konnten, daß dieselbe sich auf rote Blutkörperchen fixiert, ohne sie indessen zur Auflösung zu bringen. Die eigentliche Hämolyse wird dagegen durch das thermalabile Alexin bewerkstelligt, welches von Ehrlich unter dem Namen Komplement bezeichnet wird. Das letztere hat keine direkte Verwandtschaft zu roten Blutkörperchen und kann mit denselben sich nur durch Vermittelung der sensibilisierenden Substanz verbinden, welche deshalb von Ehrlich als Amboceptor bezeichnet wird. Nach Ehrlich und Morgenroth besitzt auch das hämolytische Serum normaler Tiere ebenfalls die beiden wirksamen Substanzen, denn keine von ihnen allein ist imstande, rote Blutkörperchen aufzulösen.

Bordet faßt den hämolytischen Vorgang in anderer Weise auf. Nach ihm wirkt die sensibilisierende Substanz nicht als ein chemisches Mittelglied zwischen dem Alexin und den Blutkörperchen, sondern als eine Art Beize, welche dann die Blutkörperchen für die Aufnahme des Alexins empfindlicher macht.

Um in diesen bedeutungsvollen Ergebnissen das sicher Festgestellte und das Hypothetische voneinander zu halten, haben wir vorgeschlagen, das Alexin oder Komplement unter dem Namen Cytase (d. h. zellenlösendes Enzym), die sensibilisierende Substanz oder Amboceptor dagegen unter dem Namen Fixator zu bezeichnen. Denn es ist ebensowenig zu leugnen, daß die Cytase sich wie ein proteolytisches Enzym, wie daß der Fixator sich auf die Blutkörperchen fixiert. Der intime Mechanismus der Wirkung dieser beiden Körper ist dagegen noch nicht einstimmig festgestellt und da die ganze Frage höchst kompliziert und schwierig ist, so gehören dazu noch mannigfaltige neue Untersuchungen.

Da der Hauptgegenstand unserer Darstellung die Phagocytose ist, so ist es ganz natürlich, daß wir hier auf die hämolytischen Vorgänge der Blutsera nur so weit eingehen können, als es eben notwendig ist für die Erklärung der Wirksamkeit der Phagocyten bei der Resorption zelliger Elemente. Unsere Hauptfrage ist demnach die, ob die beiden im Blutserum befindlichen hämolytischen Substanzen in irgendeiner Beziehung zu Phagocyten stehen.

Da die makrophagenhaltigen Organe einen hämolytischen Körper enthalten und da ein solcher auch in den an Makrophagen reichen Exsudaten vorhanden ist, so ist es a priori wahrscheinlich, daß derselbe mit dem Alexin oder Komplement der Blutsera identisch ist oder wenigstens in dieselbe Kategorie gehört. So haben wir[64] auch in unserer zusammenfassenden Darstellung die Sache aufgefaßt. Wir glauben, daß die in Makrophagen der Lymphdrüsen, des Epiploon

und der Milz befindliche Makrocytase sich auch in den mononukleären Leukocyten des Blutes, der Lymphe und der Exsudate vorfindet und mit der hämolytischen Cytase des Blutserums identisch ist. Wir stützen unsere Ansicht auf folgende Tatsachen.

Wenn man einem mit Gänseblut vorbehandelten Meerschweinchen etwas Gänseblutkörperchen in die Bauchhöhle einspritzt, so werden dieselben bald in der Exsudatflüssigkeit aufgelöst, ohne daß es dabei zu einer namhaften Phagocytose kommt. Bei Untersuchung der Peritonealflüssigkeit findet man nur wenige Leukocyten und diese sind meistens in schlechtem Zustande; sie sind unbeweglich, zu Klumpen vereinigt und unfähig Fremdkörper aufzunehmen. Sie befinden sich im Zustande der Phagolyse, bei welcher normale Phagocytose unmöglich ist.

Wenn man die Phagolyse beseitigt, durch vorherige Angewöhnung der peritonealen Leukocyten an schädliche Einflüsse (was am besten durch Einspritzung von Bouillon oder physiologischer Kochsalzlösung geschehen kann), und wenn man erst nachher Gänseblut in die Bauchhöhle einführt, dann kommt es fast zu keiner Hämolyse in der Exsudatflüssigkeit. Die Gänseblutkörperchen werden dagegen mit außerordentlicher Geschwindigkeit von zahlreichen, durchaus normalen und tätigen Phagocyten (Makrophagen sowohl wie Mikrophagen) aufgefressen. Dabei kommt auch die eigentliche Hämolyse zustande; nur wird sie nicht in der Flüssigkeit selbst, sondern ausschließlich im Innern der Phagocyten vollzogen.

Die Zusammenstellung dieser Tatsachen gestattet wohl den Schluß, daß die hämolytische Substanz der Exsudatflüssigkeit aus Leukocyten der Bauchhöhle stammt, welche durch Phagolyse stark beschädigt wurden, denn, sobald diese Phagolyse verhindert wird, hört die Hämolyse in der Flüssigkeit selbst auf, um im Innern der Phagocyten aufzutreten. Da die hämolytische Substanz des Peritonealexsudates ganz dieselben Eigenschaften hat wie diejenige des Blutserums, so ist man gezwungen, in beiden Fällen dieselbe Cytase in Anspruch zu nehmen. Man hat auch viel Gewicht auf die oft bedeutendere hämolytische Kraft des Blutserums im Verhältnis zu derjenigen einiger Exsudate desselben Tieres gelegt. So hat Sawtschenko[55] sogar durch die Rechnungsmethode nachzuweisen gesucht, daß die hämolytische Cytase des Blutserums unmöglich aus Makrophagen herstammen kann, da es sehr schwach hämolytische Exsudate gibt, in welchen sicherlich eine viel größere Menge Makrophagen als im Blute vorhanden ist. Nun hat aber Sawtschenko in dieser Ueberlegung außer acht gelassen, daß es sich bei diesen Dingen nicht nur um die Quantität, sondern auch um die Qualität der zelligen Elemente handelt. Während die im Blute kreisenden Makrophogen zum größten Teile leer sind, enthalten diejenigen der Exsudate meistens Mikrophagen. Die Verdauungsprodukte der Exsudatmakrophagen sind somit zum großen Teile schon für die Auflösung verwendet worden.

Neufeld[65] stützt seine Meinung, daß Makrophagen keine hämolytische Cytase besitzen, auf die Tatsache, daß die Auflösung roter Blutkörperchen viel langsamer im Innern der Makrophagen als im cytasehaltigen Blutserum erfolgt. Nun darf nicht außer acht gelassen werden, daß die Bedingungen zur Cytasewirkung innerhalb protoplasmatischer Makrophagen ganz andere sind als im wasserreichen Blutserum. Dieser Umstand genügt schon, um den Unterschied in der Schnelligkeit der hämolytischen Wirkung zu erklären.

Man wird wohl kaum paradox klingend oder unwahrscheinlich finden, daß man die Verdauung roter Blutkörperchen durch Makrophagen lymphoïder Organe auf dieselbe Substanz beziehen will, wie diejenige, welche Verdauung derselben Elemente in den Exsudatmakrophagen besorgt. Ich gestehe auch, daß die ganze Frage noch nicht vollständig erschöpft ist und daß erneute Untersuchungen darüber noch notwendig sind. Es ist aber trotzdem höchst wahrscheinlich, daß die intracelluläre Resorption roter Blutkörperchen und anderer zelliger Elemente des tierischen und menschlichen Organismus durch Cytase, und zwar durch Makrocytase, bewerkstelligt wird.

Nun ist es festgestellt worden, daß Cytase allein nicht imstande ist, körperliche Elemente anzugreifen und daß sie dazu noch einer anderen enzymartigen Substanz, des Fixators, bedürftig ist.

Während nun die Cytase in normalem Zustande des Organismus an Phagocyten gebunden ist und sich nur in den Fällen der Phagolyse oder bei der Serumgewinnung befreit, finden sich die Fixatoren beständig in den Flüssigkeiten des Organismus, d. h. im Blutplasma, sowie im Plasma der Lymphe und der Exsudate. Hier interessieren uns nur die Beziehungen, welche zwischen Fixatoren und der Phagocytose bestehen. Es ist von Sawtschenko[66] zuerst festgestellt und später von Tarassewitsch bestätigt worden, daß rote Blutkörperchen, welche mit dem spezifischen Fixator beladen sind, außerordentlich leicht und schnell von Phagocyten (Makrophagen sowohl wie Mikrophagen) aufgenommen werden. Aeußerlich lassen sich solche Blutkörperchen keineswegs von normalen unterscheiden und trotzdem erleiden sie unter dem Einflusse der Fixatoren ganz auffallende, aber intime Veränderungen.

Der zweite Punkt, der hervorgehoben zu werden verdient, ist die wahrscheinliche Abstammung der Fixatoren. Diese Frage wird ausführlicher in einem der nächsten Kapitel besprochen; hier genügt es nur darauf hinzuweisen, daß Zellen, welche Fixatoren als Se- oder Exkretionsprodukt ausscheiden, höchst wahrscheinlich in die Kategorie der Phagocyten gehören. Dieser Ausscheidungsvorgang erfolgt unter ganz normalen Verhältnissen, so daß es leicht begreiflich ist, daß die meisten Flüssigkeiten des Organismus (das Augenwasser macht fast die einzige Ausnahme aus dieser Regel) mehr oder weniger Fixatoren enthalten.

So leicht die Konstatierung der Phagocytose durch Makrophagen ist, so schwer ist es, die Analyse der feineren Vorgänge bei der Verdauung aufgefressener Elemente zu geben. Hier ist noch ein weites Feld für künftige Forschung vorbehalten. In letzterer Zeit hat Sawtschenko[67] darauf hingewiesen, daß die Aufnahme roter Blutkörperchen durch Makrophagen besonders dadurch erleichtert wird, daß die ersteren infolge eines physikalischen Prozesses an die Oberfläche der Phagocyten angezogen werden.

Wenn wir die Resorptionsvorgänge mannigfaltiger Gewebselemente zusammenfassen, so müssen wir vor allem betonen, daß dieselben eine Funktion der Phagocyten sind. Diese Freßzellen bemächtigen sich unter verschiedenen Umständen anderer Zellen, welche aus demselben oder aus einem fremden Individuum stammen. Man hört oft die Meinung aussprechen, daß die Resorption sich nur auf nachteilig oder unnütz gewordene Elemente bezieht und daß es meistenteils abgestorbene Zellen sind,

deren sich Phagocyten bemächtigen. Diese beiden Ansichten sind in ihrer Allgemeinheit unrichtig. Es ist unzweifelhaft, daß tote Gewebeelemente mit Leichtigkeit der Phagocytose anheimfallen; aber es ist nicht weniger richtig, daß auch lebendige Zellen von Freßzellen aufgenommen werden können. Den besten Beweis dafür liefern uns lebendige Spermien, deren Kopf von Phagocyten aufgenommen ist, zur Zeit, als der Schwanz noch lebhaft beweglich war.

Es ist fernerhin auch richtig, daß viele unnütz gewordene Gewebe und Organe resorbiert werden. Schwanzmuskeln von Kaulquappen haben uns ein Beispiel davon geliefert. Und trotzdem gibt es viele durchaus unnützliche Bildungen, welche der Phagocytose widerstehen. So bleiben Augen oder Augenrudimente bei Tieren bestehen, welche in ganz dunklen Höhlungen leben; die Milchdrüsen bei männlichen Individuen liefern uns einen ferneren Beweis, daß unnützliche Organe bestehen können, ohne resorbiert zu werden.

Auf der anderen Seite gibt es unzweifelhaft sehr nützliche Elemente, welche trotzdem der Phagocytose verfallen. So sehen wir bei vielen atrophischen Krankheiten oder in hohem Alter eine Menge edler Zellen (Nervenzellen, Muskelfasern u. dgl.) von Phagocyten aufgefressen. Da die ersteren nur schwer oder gar nicht ersetzt werden können, so ist deren Verlust ganz außerordentlich nachteilig für das Gesamtleben des Organismus.

Die soeben mitgeteilten Tatsachen und Ueberlegungen genügen schon, um die so oft wiederholte Meinung zu widerlegen, als ob die Lehre von der Phagocytose eine Art teleologischer Einrichtung im Organismus postuliert. Man wundert sich darüber, daß so einfach gebaute Zellen wie Phagocyten imstande seien, nützliche Gewebe von unnütz gewordenen oder sogar schädlichen zu unterscheiden und man glaubt, daß ihnen hohe psychische Eigenschaften zugemutet werden. Dies aber beruht auf einer irrtümlichen Auffassung der Phagocytenlehre. Die letztere nimmt bei Freßzellen eine feine Empfindlichkeit für die äußere Umgebung an, wobei Phagocyten durch positive oder negative Reaktionen antworten. Unter diesen Empfindungen spielen die sog. chemotaktischen die Hauptrolle. Durch chemische Einflüsse gereizt, nähern sich die Phagocyten der Ursache, welche die Reizwirkung ausgeübt hat; oder die Phagocyten bleiben ganz passiv oder entfernen sich sogar von derselben. Diese Annahme ist aber keine Theorie, sondern ein einfacher Ausdruck der bestehenden Tatsachen. Ebenso wie eine Amöbe oder ein Infusorium sich einigen Substanzen nähern, von anderen dagegen sich entfernen, eine Art Wahl bei der Nahrungsaufnahme aufweisend: ganz ebenso verfahren auch die Phagocyten im Innern des sie beherbergenden Organismus. Die Lehre von den Empfindlichkeiten niederer Organismen und Phagocyten ist auf einer sehr großen Reihe genauer Beobachtungen und Versuche aufgebaut worden, wobei Stahl[4], Pfeffer[5], Leber[68], Massart & Ch. Bordet[69] die besten Beweise geliefert haben.

Man hat wohl versucht, die Lehre von den Empfindlichkeiten der Phagocyten in ihrem Ganzen oder in ihren Teilen zu widerlegen, aber es war unmöglich sie zu erschüttern, da sie auf zu fester Basis ruht.

Durch ihre Empfindlichkeiten geleitet, nehmen lebende Phagocyten alles auf, was ihnen nur paßt, ganz unbekümmert darüber, ob sich daraus ein Nutzen oder ein Uebel für den Gesamtorganismus

ergeben wird. Deshalb kommt es vor, daß die Freßzellen sehr wichtige Elemente verzehren, ohne welche die Gesundheit und das Leben unmöglich bleiben können. Die Nützlichkeit der Phagocytose in so vielen Fällen erscheint nicht als eine Folge der Voraussicht der Freßzellen. Sie ist vielmehr das Resultat davon, daß die Empfindlichkeit der Phagocyten derart gerichtet ist, daß sie meistens schädliche oder unnützliche Elemente aufnehmen. In den selteneren Fällen, wo Phagocyten wichtige Gewebe angreifen, kommt es zur Krankheit und sogar zum Tode. Die natürliche Auslese muß deshalb einschreiten, um die verderbliche Tätigkeit der Phagocytose auszuschließen und nur deren nützliche Wirkung dauernd zu erhalten.

Mit Empfindlichkeit und Beweglichkeit begabt, führen viele Phagocyten ein Wanderleben im Organismus. Sie wechseln oft ihren Platz und sammeln sich an Orten, wo sie ihre Freßlust befriedigen können; sie entfernen sich auch von solchen Reizen, welche ihnen nicht zusagen.

Man hat schon seit vielen Jahren bemerkt, daß beim Menschen und bei vielen Tieren die Schleimhautoberflächen einen Lieblingsort der Leukocytenauswanderung darstellen und daß Tonsillen, PEYERsche Drüsen und andere Abschnitte der Darmoberfläche durch ganze Züge dieser Phagocyten durchdrungen werden. Diese Erscheinungen sind besonders genau durch STÖHR[70] untersucht worden, weshalb sie in der Wissenschaft unter dem Namen des STÖHRschen Phänomens bekannt sind. Sie hängen, wenigstens zum Teil, davon ab, daß unter gewissen Bedingungen Leukocyten ihre normalen Standorte verlassen, und sogar außerhalb des dieselben nährenden Organismus auswandern. So findet man oft eine Menge Leukocyten im Darmlumen und in der Mundhöhle, von wo sie nach außen ausgeworfen werden.

Wir haben im obigen die Phagocyten als verdauende Zellen kennen gelernt, welche entweder die aufgenommene Nahrung ausnutzen, wie bei Amöben und Aktinien, oder die Resorption verschiedenartigst geformter Elemente besorgen. Auch erfüllen sie noch eine wichtige Rolle, indem sie, dank ihrem Auswanderungstriebe, verschiedene Residua aus dem Tierkörper entfernen.

Bei mikroskopischer Untersuchung vieler Tiere findet man oft mit verschiedenen Körnchen beladene Zellen, welche durch Schleimhäute oder sogar durch die äußeren Bedeckungen auswandern, um den Organismus ganz zu verlassen. Die eingehendsten Beobachtungen über diesen phagocytären Reinigungsprozeß sind von DURHAM[71] bei verschiedenen Stachelhäutern gemacht worden. Eine Menge mit Pigmentkörnchen beladene amöboide Leukocyten wandern durch die Epithelschicht nach außen, wodurch die als Extrakte zu deutenden Körnchen aus dem Organismus entfernt werden.

Bei den Ringelwürmern (Anneliden) ist oft konstatiert worden, daß weiße Blutkörperchen die in die Leibeshöhle gelangenden geformten Exkrete in sich aufnehmen, um sie dann in die Epidermis zu transportieren. Einige solcher Körnchen bilden dann Hautpigmente, andere werden ganz entfernt, während noch andere von Phagocyten total verdaut werden. RACOVITZA[72] hat diesbezügliche Beobachtungen an einigen marinen Anneliden (Maldanien), SCHNEIDER[73] an mehreren Arten von Ringelwürmern angestellt. Die Exkretionsorgane dieser Tiere, welche einen wimpernden Trichter besitzen,

enthalten oft eine Anzahl mit Körner beladener Phagocyten. Es handelt sich wiederum um eine Einrichtung, welche den Organismus von geformten Exkreten reinigt. Wir wollen hier nicht ins Detail dieses Kapitels eingehen, da unser Zweck nur der war, die mannigfaltigsten Funktionen der Phagocyten zum Nutzen des Organismus anzuzeigen und die Rolle der Lebensvorgänge dieser Zellen, namentlich ihrer Empfindlichkeit und Beweglichkeit, zu betonen.

IV. Phagocytose bei der natürlichen Immunität gegenüber Infektionskrankheiten.

Viele von den in den vorigen Kapiteln zusammengestellten Ergebnissen sind erst in den letzten Jahren gewonnen worden. Indessen waren mehrere wichtige Tatsachen bereits vor längerer Zeit bekannt. Lieberkühn[74] hat schon vor 55 Jahren beobachtet, daß Süßwasserschwämme, Spongillen, eine Menge beweglicher Zellen enthalten, welche in ihr Inneres Fremdstoffe nach Art von Amöben aufnehnehmen. Das war der Grund, warum er Spongien für Kolonien von Protozoën ansah. Später hat man sich indessen von dem komplizierteren Bau dieser Tiere definitiv überzeugt, so daß es notwendig wurde, amöboide Fremdkörper aufnehmende Zellen für Wanderzellen eigentümlicher Art, mitten im Skelettgewebe zu halten.

Allmählich wurde die Wahrheit gewonnen, daß bei vielen niederen Tieren die gewöhnliche Verdauung eine intracelluläre ist und diese Entdeckung gab Veranlassung, amöboide Darmzellen mit Mesodermzellen der Spongien näher zu vergleichen[75]. Sobald das Resultat gewonnen wurde, daß die Resorption korpuskulärer Elemente nichts anderes ist als eine intracelluläre Verdauung, gleich derjenigen, mittels welcher viele niedere Tiere sich normal ernähren, so wurde es klar, daß die Phagocytose eine sehr allgemein verbreitete und hochwichtige Einrichtung im Tierreiche darstellt.

Zu dieser Schlußfolgerung vor beinahe dreißig Jahren gelangt, wurde es mir auf einmal a priori durchaus wahrscheinlich, daß Phagocyten unter anderem die Rolle haben, den Organismus von fremden Eindringlingen jeder Art zu befreien. So konnte ich in einer allgemeinen Sitzung der Versammlung russischer Naturforscher und Aerzte in Odessa, im Jahre 1883, in einem Vortrage „über die Heilkräfte des Organismus", den Satz aufstellen, daß Phagocyten es sind, welche bei der Heilung von Infektionskrankheiten die Hauptrolle spielen, indem sie Mikroorganismen in sich aufnehmen und intracellulär verdauen! Ich stützte mich dabei auf allgemeinere Erscheinungen der Phagocytose und der Resorption korpuskulärer Elemente, hatte aber zur Zeit noch keine Beobachtungen über die Bedeutung der Phagocyten in den Infektionskrankheiten, deren Erreger damals zum guten Teil bereits bekannt waren.

Erst nachträglich machte ich mich daran, nach positiven Beweisen für die heilbringende Rolle der Phagocytose zu suchen und konnte ich schon wenige Monate später eine Infektionskrankheit bei kleinen durchsichtigen Süßwasserkrustentieren, den Wasserflöhen, Daphnien, entdecken, welche mich zum gewünschten Ziele führte.

Diese Krankheit habe ich zum ersten Mal unter den Daphnien, welche im Aquarium meines verstorbenen Freundes, des berühmten russischen Zoologen Alexander Kowalewsky, lebten, entdeckt. Als

Ursache davon enthüllte sich ein eigentümlicher Sproßpilz, welcher sich massenhaft in der Leibeshöhle entwickelte und das Krustentier zur Erstickung brachte. Bei näherer Beobachtung konnte ich jedoch wahrnehmen, daß Daphnien sich durchaus nicht passiv dem Mikroparasiten gegenüber verhalten. Sobald lange nadelförmige Sporen des Sproßpilzes von einer Daphnie mit der Nahrung verschluckt werden, gelangen einige davon durch die Darmwand in die Leibeshöhle hinein, wo es sofort zu einem heftigen Kampfe zwischen dem Eindringlinge und den beweglichen weißen Blutkörperchen kommt. In sehr vielen Fällen wurden die Pilzsporen von allen Seiten durch amöboïde Leukocyten umgeben und derartig verändert, daß von ihnen nur einzelne Körner übrigblieben. Unter solchen Verhältnissen wurde die Daphnie vor einer Infektion geschützt und wenn man dieselbe in reines Wasser brachte, wo keine anderen Parasiten vorhanden waren, dann erholte sie sich ganz gut und konnte sich reichlich vermehren. Wenn Daphnien dagegen einer Reinfektion ausgesetzt waren, dann kam es vor, daß einzelne Sporen in der Leibeshöhle freiblieben und zur Keimung gelangten. Die Leukocyten setzten ihren Kampf fort, indem sie die jungen Keimlinge verfolgten und in ihr Inneres aufnahmen. Aber die Sproßpilzzellen nahmen überhand, dank einer gelösten Substanz, welche Leukocyten abtötete und zur vollkommenen Auflösung brachte. Nach einiger Zeit verschwanden sämtliche Blutkörperchen bei der kranken Daphnie und wurden durch sich stark vermehrende Pilzzellen ersetzt. In solchen Fällen entwickelte sich eine mörderische Septikämie, an welcher die Tiere bald zugrunde gingen.

Die Erscheinungen, die ich hier summarisch wiedergegeben und die ich ausführlich in einer speziellen Arbeit[76] veröffentlicht habe, konnte am lebenden Tiere unter dem Mikroskope direkt mit dem Auge verfolgt werden. Bei der verhältnismäßig einfachen Organisation der Daphnien konnte man ohne Mühe zu ganz positiven Ergebnissen gelangen und so bekam ich den ersten sicheren Grundstein für die Lehre über die Rolle der Phagocyten bei Infektionskrankheiten. Später, als diese Lehre von allen Seiten angegriffen wurde und als ich mich fragen mußte, ob ich denn wirklich einen Irrweg betreten habe, genügte es, an die Sproßpilzkrankheit der Daphnien zu denken, um sich auf einem ganz sicheren, festen Boden zu fühlen.

Nun war es augenklar, daß biologische Erscheinungen der niederen Tierwelt, so gut und sicher konstatiert sie sein mögen, nicht imstande sind, die Vorgänge bei Säugetieren überhaupt und beim Menschen insbesondere genügend aufzuklären. Ich mußte nun zu den Krankheiten höherer Tiere übergehen und die Wahl konnte selbstverständlich zu damaliger Zeit nur auf den Milzbrand fallen. Nach der ersten Orientierung über den Gegenstand und nach den wiederholten Versuchen bei verschiedenartigen Wirbeltieren konnte ich nicht lange daran zweifeln, daß auch bei dieser Infektionskrankheit die tatsächlichen Verhältnisse im großen und ganzen mit den Forderungen der Phagocytentheorie gut übereinstimmen.

Auf demselben Kongresse in Odessa im August 1883, wo ich zuerst meine Lehre entwickelt hatte, demonstrierte der bekannte Warschauer Histologe, Prof. Hoyer, Präparate von Organen an Milzbrand gestorbener Laboratoriumstiere. Auf schönen, doppelt gefärbten Scnitten konnte man, neben einer Masse Milzbrandbacillen, an-

scheinend intakte und ganz leere Milzzellen beobachten. Von allen Seiten fragte man, wie kommt es denn, daß in einem solchem Falle keine Phagocytose wahrzunehmen war. Darauf zu antworten, mußte man die Beziehungen zwischen Bakteridien und den Körperzellen überhaupt und den Phagocyten insbesondere einer genauen Untersuchung unterwerfen. Sobald ich einer Milzbrandkultur habhaft werden konnte (was damals noch nicht so leicht war), setzte ich mich sofort an die Arbeit, um Schritt für Schritt die Erscheinungen der experimentellen Milzbrandseptikämie bei verschiedenen Tieren zu verfolgen. Es ergab sich bald als allgemeines Resultat, daß die Phagocytose nur dann vorkommt, wenn der tierische Organismus einen mehr oder weniger starken Widerstand gegenüber der Bacilleninvasion aufweist. In den Fällen der natürlichen Immunität, wie eine solche bei Hunden und Fröschen aufzuzeichnen ist, ist die Aufnahme der Bakteridien durch Phagocyten eine sehr starke, während bei Tieren, welche die größte Empfänglichkeit für Milzbrand zeigen, wie Meerschweinchen und Mäuse, Phagocytose nur als Ausnahmeerscheinung vorkommt. Einige Arten, wie Ratten, nehmen eine Mittelstellung an, da bei ihnen, neben zahlreicher Aufnahme in Phagocyten, auch viel freie Bakteridien zu beobachten sind.

Auf Grund solcher Tatsachen veröffentlichte ich[77] im Jahre 1884 eine Abhandlung, in welcher ich das verschiedene Verhalten der Phagocyten gegenüber Bakteridien durch eine Art Auswahl seitens der ersteren zu erklären versuchte. Zu dieser Zeit kannte man noch nicht die Erscheinungen der Chemotaxis, wie sie von Stahl und Pfeffer bei niederen Pflanzen beschrieben wurden. Im Grunde genommen, die Annahme, daß Phagocyten, nach Art von Amöben und anderen einzelligen Organismen, eine Wahl ihrer Nahrung ausüben, führte zur Anerkennung einer besonderen Empfindlichkeit seitens der Freßzellen.

Als ich bald nach meinen ersten Milzbranduntersuchungen einen Vortrag darüber in der Odessaer medizinischen Gesellschaft hielt, wurde mir vorgeworfen, daß die von mir mitgeteilten Tatsachen so sehr mit den Forderungen der Phagocytentheorie übereinstimmen, daß die ganze Sache an sich etwas verdächtig erscheinen mußte. Da aber meine Beobachtungen richtig waren und leicht durch mikroskopische Präparate demonstriert werden konnten, so blieb nichts anderes übrig, als dieselben anzunehmen und dazu noch die Schlußfolgerung, daß die Phagocytose eine hervorragende Rolle bei der Immunität von Infektionskrankheiten spielt, zu akzeptieren.

Es entstand nun die Aufgabe zu erforschen, ob bei sämtlichen Infektionskrankheiten, deren Mikroorganismen bekannt sind, die Erscheinungen der Phagocytose Hand in Hand mit der natürlichen Immunität gehen. Ohne weiteres brauchte dieser Satz gar nicht angenommen und konnte er nur durch genaue Feststellung der tatsächlichen Verhältnisse bewiesen werden. Selbst für Milzbrand sind Widersprüche laut geworden, welche die Rolle der Phagocyten bei immunen Tieren nicht anerkennen wollten. So behauptete v. Christmas[78], „daß bei Ratten, welche Milzbrandinfektion gut vertragen, die eingeführten Bacillen zugrunde gehen, ohne daß sie vorher von Eiterkörperchen aufgenommen werden. Die Phagocytose spielt hier eine untergeordnete oder überhaupt keine Rolle“ (S. 409).

Diese Arbeit gab den Anstoß zu einer ganzen Reihe Untersuchungen, welche zu dem Resultate gelangten, daß es unmöglich ist,

die Widerstandsfähigkeit des immunen Organismus mit der Phagocytose in Zusammenhang zu bringen. Hier brauchen wir nicht in die Einzelheiten dieser Debatten einzugehen, welche eine ganze Reihe von Jahren dauerten, da es uns zu weit führen würde. Es genügt nur darauf hinzuweisen, daß man jetzt allgemein annimmt, daß die Phagocytose mit der natürlichen Immunität parallel geht. Um diesen Satz zu bekräftigen, ist es notwendig, eine Reihe konkreter Fälle aus dem Bereiche dieser Immunität anzuführen.

Zunächst wollen wir noch einiges über Milzbrand hervorheben. Bei sämtlichen bis jetzt bekannten, natürlich immunen Tieren ist eine sehr hervorragende Phagocytose sicher konstatiert worden. In dieser Beziehung hat eine im Laboratorium von Prof. Recklinghausen durch Hess ausgeführte genaue Arbeit einen zweifellosen Einfluß ausgeübt. Ganz ohne vorgefaßte Meinung ans Werk getreten, konnte Hess[79] nicht nur die meisten der von mir angegebenen Tatsachen bestätigen, sondern ihnen auch mehrere neue von großer Bedeutung hinzufügen. Natürlich immune Tiere, wie Hunde und Hühner, befreien sich von einer Menge eingebrachter Milzbrandbazillen durch eine sehr reichhaltige Phagocytose. Hess konnte diese Angaben bei der Untersuchung der Vorgänge konstatieren, wie sie sich in den, in den Organismus eingeführten, Glasklammern vollziehen. Bakteridien wurden dabei von eingewanderten Leukocyten massenhaft aufgenommen und stark verändert.

Jetzt ist es nun eine geläufige Tatsache, daß bei gegen Milzbrand natürlich immunen Wirbeltieren aller Klassen die Phagocytose ganz allgemein und in großer Ausdehnung zur Erscheinung kommt. Bei solchen Tieren dagegen, welche für virulente Milzbrandbacillen eine hohe Empfänglichkeit besitzen, vermehren sich diese Parasiten ganz ungehindert, indem sie nur in seltenen Fällen und spärlich von Phagocyten aufgenommen werden. Trotzdem erweisen sich diese Tiere gegenüber abgeschwächten Bakteridien mehr oder weniger resistent und dann verlaufen die Erscheinungen der Phagocytose ganz in derselben Weise wie bei natürlich immunen Tieren, denen man virulente Bakteridien einimpft.

In früheren Zeiten hatte man bisweilen Milzbrand bei Haussäugetieren mit dem Rauschbrande verwechselt, da in diesen beiden Krankheiten stäbchenförmigen große Bakterien vorkommen. Gegenwärtig ist eine Verwechslung unmöglich, zumal der Rauschbrandbacillus ein strenger Anaërobe ist. Zur Zeit, als man die Frage über die Beziehungen der Phagocytose zur Immunität noch sehr eifrig diskutierte, ließ Prof. Ziegler seinen Schüler Rogowitsch[80] eine Arbeit über den Rauschbrandbacillus machen. Dieser Beobachter konnte sich aber in keinem Falle von dem Vorhandensein einer irgendwie bedeutenden Phagocytose überzeugen und dies bei verschiedenen dazu verwandten Säugetierarten. Dieses negative Resultat beruhte indessen auf einem Beobachtungsfehler, wie ich[81] und Ruffer[82] es bald nachweisen konnten. Weder von Ziegler, noch von irgendeinem anderen Gegner der Phagocytenlehre ist seitdem versucht worden, die Resultate von Rogowitsch zu unterstützen. Dagegen haben in den letzten Jahren Leclainche & Vallée[83] diese Frage von neuem in Angriff genommen und dieselbe ganz im Sinne meiner Theorie entschieden. Sie haben festgestellt, daß der Rauschbrandbacillus nur dann imstande ist eine tödliche Krankheit hervor-

zurufen, wenn es ihm gelingt, sein Toxin im Organismus auszuscheiden. Dazu braucht er die Hilfe anderer Bakterien oder irgendwelcher äußerer Bedingungen, welche die Phagocytose während einiger Zeit unmöglich machen. Es genügte, Rauschbrandsporen durch Erhitzung (80°—85°) von dem ihnen anhaftenden Toxine zu befreien und dieselben mit sterilisiertem Sande in den Organismus der Meerschweinchen einzuführen, damit die letzteren am typischen Rauschbrande starben. Dabei wird die Phagocytose, wenigstens den Sporen gegenüber, welche sich in dem zentralen Teile des Sandkörnchenkonglomerates befinden, verhindert. Diese Sporen, durch Körpersäfte befeuchtet, gelangen zur Keimung, wobei die ausgekeimten Bacillen sofort ihr tödliches Gift erzeugen. Wenn man dagegen solche Sporen allein, ohne Sand einführt, dann werden sie bald von Phagocyten ergriffen und im Auskeimen gestört, was das Gesundbleiben der Meerschweinchen zur Folge hat. Es erweist sich somit, daß diese Tiere eine natürliche Immunität gegenüber Rauschbrandbacillen besitzen und daß dieselbe auf der Wirksamkeit der Phagocyten beruht.

Ganz dieselbe Regel findet für zwei andere anaërobe Bacillen, den Tetanusbacillus und den Bacillus des malignen Oedems, ihre Anwendung. Noch lange vor den berichteten Untersuchungen von Leclainche & Vallée hat Vaillard mit seinen Mitarbeitern Vincent[84] und Rouget[85] nachgewiesen, daß, so paradox es klingen mag, sämtliche Tiere gegenüber dem Tetanuserreger eine natürliche Immunität aufweisen. Die letztere kann durch sekundäre Mikrobien aufgehoben werden, wenn solche neben Tetanussporen in den Organismus gelangen. Die Einführung einer enormen Menge Tetanusbacillen oder ihrer Sporen, falls nur dabei kein fertiges Toxin mit eingespritzt wird, läßt das Tier in vollkommener Gesundheit. Es sammelt sich dabei um die eingeführten Mikrobien eine sehr große Anzahl Leukocyten, welche Bacillen und Sporen eifrig auffressen und vollkommen unschädlich machen. Wenn man aber zu solchen Bakterien etwas fertig gebildetes Tetanustoxin hinzufügt, dann wird die Phagocytose verhindert und die Tiere gehen unfehlbar am typischen Tetanus zugrunde. Diese Resultate waren von mehreren Seiten sehr heftig angegriffen, aber die genauere Analyse der gemachten Einwände konnte nur die von Vaillard aufgestellte These definitiv bestätigen. Gegenwärtig ist sie in der Wissenschaft einstimmig angenommen. Für den Bacillus des malignen Oedems ist sie von Besson erweitert worden.

Besson[86] hat festgestellt, daß das Toxin dieses Bakteriums bei Leukocyten eine negative Chemotaxis erzeugt. Als er feine Glasröhrchen mit diesem Toxin anfüllte und dieselben Kaninchen und Meerschweinchen subkutan einführte, blieben die Röhrchen lange Zeit frei von Leukocyten, während sie sehr zahlreich in den Röhrchen waren, welche nur die für die Kultur gebrauchte Bouillon enthielten. Das Toxin des malignen Oedems ist demnach ein Mittel, um Leukocyten fernzuhalten. Die Bacillen dieser Infektionskrankheit und ihre Sporen erzeugen im Gegenteil eine starke positive Chemotaxis der Leukocyten. Wenn man diese Mikrobien sorgfältig vom fertig gebildeten Toxin befreit und sie dann unter die Haut von Meerschweinchen einführt, so rufen sie, ganz wie die Tetanus- und Rauschbrandbacillen, eine sehr starke Leukocyteneinwanderung hervor. Diese Phagocyten nehmen Bacillen, resp. ihre Sporen auf und beschädigen

sie dermaßen, daß sie nicht imstande sind, eine ernstliche Krankheit zu erzeugen. Außer einer örtlichen Leukocytenansammlung wird dabei kein anderes abnormes Symptom beobachtet.

Um malignes Oedem zu erzeugen, müssen demnach die Bacillen vor Phagocyten geschützt sein. Dies kann auf verschiedene Weise erzielt werden. So kann man von Toxin durch Erwärmung auf 80° befreite Sporen in kleine Agarwürfel einführen und die letzteren unter die Haut der Meerschweinchen unter aseptischen Kautelen einimpfen. Leukocyten können zwar auf die Oberfläche des Agarwürfels gelangen, aber ehe sie bis in deren Tiefe eindringen, haben mehrere Sporen schon Zeit, um auszukeimen und ihr mörderisches Toxin auszuscheiden. Dies genügt, um tödliches malignes Oedem zu erzeugen. Man braucht aber nur einen mit Sporen versehenen Agarwürfel, nachdem er unter die Haut eingeführt wurde, mit den Fingern zu zerquetschen, um ein ganz entgegengesetztes Resultat zu erzielen. Leukocyten können dabei sämtlicher Sporen habhaft werden und das Tier vor der giftigen Wirkung definitiv schützen.

Unter natürlichen Bedingungen wird das maligne Oedem durch Hilfe verschiedenartiger Bakterien erzeugt, welche die Phagocytose der Oedemsporen verhindern. Die letzteren keimen dabei aus und sondern ihr mörderisches Toxin in das Blut und die Gewebe ab. Besson hat aus Gartenerde vier aërobe Bakterien isoliert, welche das maligne Oedem zu bilden verhalfen. Außerdem fand er, daß Micrococcus prodigiosus und Staphylococcus aureus ebenfalls dazu dienen können, um die natürliche Immunität des Organismus gegenüber dem Bacillus des malignen Oedems vollkommen aufzuheben.

Bei Krankheiten, welche durch anaërobe Bacillen hervorgerufen werden, kommt es, wie bei den Fäulniserscheinungen, zu einer Symbiose mehrerer Arten, wobei die aëroben zuerst auftreten, um den viel heftiger wirkenden anaëroben Platz zu machen. Jedenfalls gehören die bei den drei, durch anaërobe Bacillen erzeugten Infektionskrankheiten genau festgestellten Tatsachen zu den besten und den unwiderleglichsten Beweisen für die hervorragendste Rolle der Phagocytose bei der natürlichen Immunität.

Die Bedeutung der Phagocytose bei der natürlichen Immunität gegen Tuberkulose ist ganz besonders auffallend. Hier spielen die Makrophagen, welche in der Regel zu Riesenzellen auswachsen, die Rolle der Bacillenvertilger. Bei kleinen Nagetieren — Meriones Shawii — konnte ich[87] nachweisen, daß Tuberkelbacillen von Riesenzellen aufgenommen und dort durch Kalkimprägnation zugrunde gerichtet werden.

Nachdem wir die Reaktion seitens der Phagocyten bei mehreren bacillären Krankheiten erörtert haben, können wir in der Darstellung der durch andere Mikrobien erzeugten Infektionen uns kürzer fassen.

Pathogene Spirillen sind überhaupt viel seltener als krankheitserregende Bacillen. Außer Recurrenspirillen sind in dieser Beziehung die ganz analogen Spirillen der Syphilis, der Vogelseptikämien und die zahlreichen Vibrionen hervorzuheben. Was die erstere der erwähnten Arten betrifft, so hat Sawtschenko[88] genügend festgestellt, daß die natürliche Immunität der Meerschweinchen auf Phagocytose zu beziehen ist. Dieser Autor drückt sich darüber folgendermaßen aus: „In der Peritonealhöhle der natürlich immunen Tiere gehen die Spirochäten

(Sp. Obermeyeri des Rückfallfiebers) zugrunde infolge der langsam verlaufenden Phagocytose und nicht durch eine bakterizide Wirkung der Körpersäfte." Ganz dieselben Ergebnisse konnte ich [64] bei Untersuchungen der natürlichen Immunität der Meerschweinchen gegenüber den Spirillen der Gänseseptikämie feststellen.

Die natürliche Immunität gegenüber Choleravibrionen ist oftmals von verschiedenen Beobachtern untersucht worden. Besonders häufig hat man diese Bakterien in die Peritonealhöhle von Meerschweinchen eingeführt, um eine tödliche allgemeine Infektion hervorzurufen. Es kam aber dabei sehr oft vor, daß Tiere die Einimpfung sehr gut vertrugen und sich als immun gegenüber ziemlich großen Mengen Vibrionen erwiesen. Die Erscheinungen bei dieser Immunität stimmen im großen und ganzen ganz gut mit denjenigen, welche wir für verschiedene Bacillen als Regel aufstellten, überein. Die eingespritzten Vibrionen werden von in Masse in die Bauchhöhle eingewanderten Leukocyten aufgenommen und sehr bald darin getötet und verdaut. Einige Stunden nach dem Beginne des Versuches findet man in den Exsudattropfen eine große Menge Leukocyten und nur wenige freie und frei bewegliche Vibrionen, welche bald von Phagocyten aufgefressen werden.

Pathogene Kokken sind von mehreren Forschern in bezug auf die natürliche Immunität ihnen gegenüber untersucht worden. In sämtlichen genauer untersuchten Fällen konnte man eine sehr reichliche Phagocytose konstatieren, gleichgültig ob es sich um Gonokokken, Pneumokokken, Staphylokokken oder Streptokokken handelte. Die Einimpfung dieser verschiedenen Kokkenarten bei immunen Tieren ruft eine schnelle und sehr reichhaltige Leukocyteneinwanderung hervor. Hand in Hand mit dieser Erscheinung erfolgt die Abnahme der Zahl eingeimpfter Bakterien, welche durch Phagocytose zustande kommt. Besonders zahlreich sind die Untersuchungen über die Immunität der Meerschweinchen gegenüber Streptokokken. Es sind darüber namentlich die Arbeiten von J. Bordet [89], Marchand [90] und Wallgren [91] veröffentlicht worden, aus denen es in fast ganz übereinstimmender Weise hervorgeht, daß die wichtigste Rolle dabei der Phagocytose zukommt.

Während die große Verbreitung der Phagocytose bei der natürlichen Immunität als allgemeine Regel anerkannt wurde, glaubte Weil [92], daß die Kokkobacillen der Hühnercholera insofern eine Ausnahme machen, als bei ihnen der immune Organismus sich dieser Bakterien ohne Zuhilfenahme der Phagocyten entledigt. Nun konnte Sulima [93] in meinem Laboratorium nachweisen, daß es bei geeigneter Technik gelingt, auch bei natürlich immunen Meerschweinchen eine unzweideutige Phagocytose nachzuweisen.

Nicht nur pathogene Mikroorganismen aus der Gruppe der Bakterien, sondern auch andere Parasiten begegnen im natürlich immunen Organismus einer heftigsten Reaktion seitens der Phagocyten. So ruft die Einimpfung verschiedener Hefepilzarten eine starke Leukocytenansammlung hervor, wobei es sehr leicht ist die Aufnahme so großer Organismen durch Phagocyten direkt zu beobachten. Die Untersuchungen von Schattenfroh [94] und Skschiwan [95] haben uns darüber in genügender Weise belehrt.

Ein ganz besonders günstiges Objekt für derartige Untersuchungen bieten die Beispiele natürlicher Immunität gegenüber Schim-

melpilzen dar. Die Sporen und Mycelien verschiedener Repräsentanten, namentlich der Aspergillusarten, sind im Verhältnis zu Bakterien sehr große Objekte, um ohne Mühe beobachtet zu werden. Es gelang auch Ribbert[96] sehr gut Phagocytoseerscheinungen bei Kaninchen zu konstatieren. Auch konnte Renon[97] feststellen, daß Frösche, welche sowohl bei niederer, als bei höherer Temperatur gegenüber Aspergillus fumigatus natürlich immun sind, sich vor diesen Pilzen durch eine ausgiebige Phagocytose seitens der Leukocyten verteidigen. Bei Kaninchen konnte derselbe Autor eine intracelluläre Aufnahme der Sporen von Aspergillus niger beobachten, welche die Auskeimung verhinderte. Die von ihm untersuchten Phagocytoseerscheinungen gingen Hand in Hand mit der natürlichen Immunität der gewählten Tierarten.

Verhältnismäßig wenig Infektionskrankheiten werden durch tierische Parasiten erzeugt. Auch ist die Immunität gegenüber solchen Infektionen insofern schwieriger zu untersuchen, als es bisher nur in seltenen Fällen gelungen ist, künstliche Kulturen solcher Mikrobien zu erlangen. Nichtsdestoweniger besitzt die Wissenschaft bereits ein genügendes Material, um über den Verlauf der Resistenzerscheinungen sich Rechenschaft zu geben. So haben Laveran & Mesnil[98] die natürliche Immunität der Meerschweinchen gegenüber den geißeltragenden Infusorien Trypanosoma lewisii, genauer untersucht. Diese schnellbeweglichen Tierarten erzeugen eine Infektionskrankheit bei Ratten und kommen sehr zahlreich im Blute dieser Nager vor. Nachdem ein solches trypanosomenhaltiges Blut in die Peritonealhöhle von Meerschweinchen eingespritzt worden war, konnten die genannten Forscher in ausgezogenen Exsudattropfen zahlreiche Leukocyten und Parasiten nebeneinander beobachten. Es gelang ihnen ohne große Mühe, die Phagocyten im Moment zu ertappen, als Leukocyten noch rasch beweglichen Trypanosomen in ihren Leib aufnahmen. Einmal aufgefressen, verschwanden die Parasiten mit größter Schnelligkeit innerhalb der Leukocyten. Man konnte indessen noch deutliche Trümmer in ihrem Innern auf gut gefärbten Präparaten wahrnehmen. Durch diese Befunde geleitet, haben Laveran & Mesnil genau festgestellt, daß auch im Organismus lebender Meerschweinchen Trypanosomen ganz auf dieselbe Weise wie in vitro ihren Untergang innerhalb von Phagocyten finden.

Wir haben hier in Kürze eine ganze Reihe von Beispielen natürlicher Immunität vorgeführt, um zu zeigen, wie allgemein verbreitet dabei die Verteidigung des Organismus durch Phagocytose ist. Wir müssen noch hinzufügen, daß dieses Verteidigungsmittel im ganzen Tierreiche ganz allgemein und sowohl bei niederen Wirbellosen wie bei den höchsten Wirbeltieren, inklusive des Menschen, verbreitet ist. Eine Käferlarve oder ein Krustentier, ebensowohl wie ein Frosch, Krokodil, Vogel oder Säugetier u. dergl., im Falle wenn diese Tiere gegenüber einem Mikrobion natürlich immun sind, üben als Hauptwaffe, um ihre Gesundheit zu erhalten, die intracelluläre Aufnahme und Verdauung durch Phagocyten. Und dies ganz gleich, ob das lebende Virus dem Pflanzen- oder Tierreiche angehört, ob es ein Spalt-, Sproß- oder Schimmelpilz ist, oder ob es der Gruppe der Protozoën oder Würmer beizurechnen ist.

Nachdem dieses fundamentale Gesetz durch eine unzählige Menge genau beobachteter Tatsachen festgestellt wurde, mußte man zur

Frage übergehen, in welche Kategorie der Elemente die bei der natürlichen Immunität tätigen Phagocyten einzutragen sind. Im Kapitel über atrophische und Resorptionsvorgänge haben wir eine ganze Reihe Gewebezellen hervorgehoben als befähigt, andere Körperelemente aufzunehmen und zur Auflösung zu bringen. So sahen wir Bestandteile quergestreifter Muskelfasern die eigentlich kontraktile Substanz verdauen. Es handelte sich hier um ein Beispiel von amöboïdem Protoplasma, welches in die Gruppe der sessilen oder fixen Phagocyten eingereiht werden muß. In sämtlichen Fällen der Resorption sahen wir einkernige Phagocyten, welche entweder als mobile, im Blute und in der Lymphe kreisende Leukocyten, oder als fixe, mit beweglichen Protoplasmaausläufern versehene Zellen aufzufassen sind. Nun haben tatsächliche Befunde ergeben, daß die Zahl dieser fixen Phagocyten sehr reduziert werden muß. So haben sich, nach Untersuchungen von N. Tschistowitsch [99], die sogenannten Epithelien der Lungenalveolen als eingewanderte mononukleäre Leukocyten ergeben, welche in die Lungenbläschen einwandern und hier Pflasterepithel vortäuschen. Die sogenannten Kupfferschen Sternzellen der Leber dürfen ebenfalls nicht mehr als besondere Gewebelemente, sondern einfach als große mononukleäre Leukocyten aufgefaßt werden. Es bleiben somit große Zellen der Milzpulpa und der Lymphdrüsen als Hauptrepräsentanten der fixen Makrophagen bestehen. Ihnen können noch Endothelzellen einiger Organe, Knochenkörperchen und einige andere Elemente der Bindegewebsgruppe beigezählt werden. Indessen sind im großen und ganzen bewegliche Makrophagen, d. h. große einkernige Blut- und Lymphkörperchen, bei weitem die verbreitetsten unter den mononukleären Phagocyten. Bei den atrophischen Prozessen spielen sie eine hervorragende Rolle. Aber auch bei der Immunität gegenüber Infektionskeimen haben sie oft eine große Bedeutung. So sehen wir bei den Mikrobien chronischer Krankheiten, wie z. B. Tuberkulose und Aktinomykose, die Makrophagen eifrig nach Mikroorganismen jagen und bei den Fällen natürlicher Immunität einen Sieg davontragen. Nach Untersuchungen von Dembinski [100] wird die Einimpfung von Bacillen menschlicher Tuberkulose in natürlich immune Tauben durch eine auffallende Reaktion seitens Makrophagen ausgezeichnet, welche aus großen einkernigen Elementen sich in noch viel größere vielkernige Riesenzellen umwandeln. Auch bei den Mikrobien einiger akuter Krankheiten kann die natürliche Immunität durch Makrophagen hervorgerufen werden. So sah Sawtschenko [88], daß Spirillen des Rückfallfiebers im natürlich immunen Organismus der Meerschweinchen ausschließlich durch mononukleäre Phagocyten überwältigt werden.

Die angeführten Beispiele bilden indessen noch lange nicht die allgemeine Regel. Bei der natürlichen Immunität gegenüber Infektionskrankheiten spielen die Mikrophagen bei weitem die bedeutendste Rolle. Unter Mikrophagen verstehen wir vor allem die sogenannten polynukleären Leukocyten, welche indessen durchaus nicht mehrkernig sind, sondern nur einen einzigen, aber gelappten Kern besitzen, dessen Kernlappen durch feine Fäden miteinander verbunden sind. Außerdem müssen noch die eosinophilen Leukocyten Ehrlichs ebenfalls als Mikrophagen aufgefaßt werden, da sie, nach Untersuchungen von Mesnil [101], imstande sind, Mikrobien in sich aufzunehmen.

Die Regel, daß beim Kampfe gegenüber Infektionserregern den

Mikrophagen eine ganz hervorragende Rolle zukommt, ist eine so konstante, daß in den Fällen, wo man in irgendeinem Teile des Organismus eine bedeutende Menge solcher Phagocyten angesammelt findet, man überzeugt sein kann, daß an demselben Orte auch Mikrobien vorkommen müssen. Wenn man dagegen nur Makrophagen vereinigt findet, so kann es sich entweder um einen Infektionsprozeß oder auch um einen Resorptionsvorgang handeln. In solchen Fällen kann nur eine tiefere Analyse über die Ursache der Reaktion entscheiden.

Mikrophagen sind ausschließlich bewegliche Phagocyten, welche leicht von Ort zu Ort durch Blut oder Lymphe übertragen werden und welche selbst vermittelst ihrer Protoplasmaausläufer leicht ihren Platz ändern können. Es ist leicht die Aufnahme von Mikrobien durch Mikrophagen direkt zu beobachten, da dieser Vorgang in vitro in aller Kürze verläuft. Man sieht Phagocyten einen oder mehrere Ausläufer in der Richtung der in der Nachbarschaft liegenden Bakterien oder anderen Mikroorganismen senden, um dieselben dann mehr oder weniger schnell mit Protoplasma zu umschließen. Wenige Minuten später wird der Infektionserreger ins Innere des Mikrophagen befördert, wo um ihn eine Vakuole sich bildet. Die letztere enthält, außer dem aufgefressenen Parasiten, noch eine klare Flüssigkeit in mehr oder weniger großer Quantität angesammelt.

Wenn die von Mikrophagen aufgenommenen Bakterien beweglich sind, wie z. B. die Bacillen des blauen Eiters, Typhus- oder Colibacillen, so kann man mitunter mit großer Deutlichkeit die aktiven Bewegungen dieser Mikrobien noch im Inneren dieser Verdauungsvakuolen verfolgen. Früher oder später hören diese Bewegungen auf, was schon auf einen nachteiligen Einfluß des Phagocyten auf den Mikroorganismus hindeutet. Die weitere Beobachtung lehrt in der Tat, daß die meisten Infektionserreger durch Phagocyten geschädigt und schließlich aufgelöst, d. h. vollständig verdaut werden. Am leichtesten ist dieser Vorgang an vegetativen Bakterienformen zu konstatieren. So werden Spirillen bröckelig und zerfallen schließlich in unregelmäßige Körnchen. Bacillen verlieren unter dem Einfluß der Phagocyten ihre normale Opaleszenz, werden körnig, zum Teil durchsichtig und blaß und lassen nur noch ihre Membran unterscheiden. Schließlich verschwindet auch die letztere, womit der Verdauungsvorgang beendigt wird. Kokken werden in den Nahrungsvakuolen der Phagocyten ebenfalls sehr stark verändert. Sie vergrößern sich zuerst und werden blasser und durchsichtig, bis sie schließlich definitiv aus den Augen verschwinden.

Es ist erwähnenswert, daß viele unter den von Phagocyten aufgenommenen Bakterien im Inneren dieser Zellen solche Veränderungen erleiden, daß sie nunmehr leicht durch Eosin gefärbt werden können. Solche eosinophile Bakterien sind unter den phagocytierten Choleravibrionen, Milzbrandbacillen u. a. aufgefunden worden.

Es gibt aber auch Mikrobien, welche sehr lange innerhalb der Phagocyten ihre äußere Form und Konsistenz behalten. Zu dieser Gruppe gehören Tuberkel- und Leprabacillen, welche monatelang noch im Inhalte der Phagocyten deutlich erkannt werden können. Auch Sporen mehrerer Bakterienarten können sich ebensolange erhalten. In solchen Fällen beschränken sich die Phagocyten darauf, nur die Auskeimung der Sporen resp. die Vermehrung der Bacillen

aufzuhalten, womit dem bedrohten Organismus ein großer Dienst erwiesen wird.

Wenn man verschiedenen Phagocyten blaue Lackmuskörnchen darreicht, so werden dieselben mit Leichtigkeit aufgenommen; indessen bleibt ihre Farbe stets bestehen. Verschiedene Farblösungen, welche saure Reaktion aufweisen, zeigen auch keine Veränderung. Nur wenn man das von Ehrlich in die Technik eingeführte Neutralrot anwendet, kann man in sehr vielen Fällen sehen, daß von Phagocyten aufgenommene Bakterien eine stark rote Färbung annehmen, was auf eine schwach saure Reaktion hindeutet. Es ist demnach möglich anzunehmen, daß die intracelluläre Verdauung in den Phagocyten unter dem Einflusse einer schwach sauren Flüssigkeit, welche sich in den Nahrungsvakuolen ansammelt, stattfindet. Diese Regel, obwohl sehr verbreitet, ist jedoch nicht ganz allgemein. Es gibt Makrophagen, welche in einem deutlich alkalischen Medium einige Mikrobien verdauen. So werden die Tuberkelbacillen im Inneren von Riesenzellen des oben erwähnten Nagetieres, Meriones Shawaii, mit phosphorsaurem Kalk durchdrungen, wobei die Farbenreaktionen eine deutliche Alkalinität aufweisen. Auch bei mehreren anderen Tierarten werden Tuberkelbacillen und ihnen nahe verwandte säurefeste Bakterien durch Neutralrotlösung nicht rot, sondern braun oder gelblich gefärbt (Himmel).

Es kommen demnach bei der intracellulären Verdauung der Mikrobien in den Phagocyten ähnliche Erscheinungen vor, wie wir sie bei Protozoën vorfanden, wo man neben der großen Mehrzahl Beispiele einer Verdauung im deutlich sauren Medium, einige Fälle mit alkalischer Reaktion der Nahrungsvakuolen beobachtet.

Wahrscheinlich ist, daß beide Reaktionen im Inneren der Phagocyten wechseln können, ebenso wie es für Paramäcien beobachtet wurde.

An der Tatsache, daß Phagocyten lebende Mikrobien aufnehmen und sie dann abtöten, kann nunmehr kein Zweifel bleiben. Der beste Beweis wird durch folgenden Versuch geliefert. Man entnimmt einem natürlich immunen Tiere etwas Exsudat, in welchem Bakterien innerhalb der Phagocyten liegen. Außerhalb des Organismus, im hängenden Tropfen, gehen die Phagocyten zugrunde, während die in ihnen liegenden Bakterien zu ganzen Kolonien auswachsen. In älteren Exsudaten, wo man schon sichtlich degenerierte Bakterien innerhalb der Phagocyten findet, kommt es nun zu keinem Wachstum mehr. Es folgt daraus, daß Bakterien lebend aufgenommen und im Inneren der Phagocyten abgetötet wurden.

Es ist von vornherein einleuchtend, daß es sich auch bei der Verdauung der Bakterien durch Phagocyten überhaupt und durch die Mikrophagen im besonderen um eine Enzymwirkung handeln muß. Es fragt sich nur, ob dabei dieselbe Cytase in Wirkung tritt, welche wir bei der Resorption der Zellen durch Makrophagen tätig sahen. Wir berühren hier eine sehr komplizierte Frage, welche noch nicht ganz definitiv entschieden werden kann. Es ist trotzdem höchst wahrscheinlich, daß die Verdauung der Mikrobien durch Mikrophagen von einem Enzym bewerkstelligt wird, welches in die Gruppe der Cytasen gehörend, mit der Makrocytase jedoch nicht identifiziert werden darf. Viele Tatsachen sprechen für diese Schlußfolgerung. Erstens muß es hervorgehoben werden, daß die Extrakte lymphoïder Organe, welche

hämolytisch wirken, gar keinen bakteriziden Einfluß ausüben. Exsudate, welche besonders reich an Makrophagen sind, erweisen sich auch als schwach oder gar nicht mikrobientötend. Auf der anderen Seite üben die Exsudate, in welchen die Mikrophagen besonders zahlreich sind, eine sehr ausgesprochene tödliche Wirkung auf Bakterien, ohne deshalb hämolytisch zu sein.

Forscher, welche streng die Einheitlichkeit der Cytasen verfechten, glauben, daß die verschiedene Wirkung der Makrophagen- und Mikrophagenextrakte durchaus nicht auf dem Vorhandensein von zwei verschiedenen Cytasen beruht, sondern auf die Verschiedenheit der Fixatoren zurückzuführen ist. Diese Ansicht vertritt besonders Sawtschenko[55]. Er glaubt, daß die Tatsache, daß von Fixatoren beladene rote Blutkörperchen leicht von Mikrophagen aufgenommen und verdaut werden, dafür spricht, daß die dabei wirkende Cytase dieselbe ist, welche auch im Inneren von Makrophagen tätig ist. Nun muß dagegen erwidert werden, daß die Vorgänge, welche man im Zellinhalte der Makro- und Mikrophagen beobachtet, sich untereinander sehr deutlich unterscheiden. Am besten kann dies an Choleravibrionen und ähnlichen Bakterien nachgewiesen werden. Beide Arten von Phagocyten nehmen diese Vibrionen in sich auf und beide können dieselben verdauen. Aber, während in den Mikrophagen die Vibrionen sich in runde, kokkenähnliche Körper verwandeln, tun dies die von Makrophagen aufgenommenen gar nicht. Dieser Unterschied läßt sich schwerlich durch Fixatoren erklären, weil ja diese Substanzen in Körperflüssigkeiten aufgelöst und folglich in denselben gleichmäßig verteilt sind. Es ist viel wahrscheinlicher, an einen Unterschied der Cytasen (Mikro- und Makrocytase) zu denken.

Auf der anderen Seite wollen Ehrlich und seine Mitarbeiter und Anhänger nicht die zwei Cytasen anerkennen, weil es nach ihrer Meinung eine ganze Menge davon bei jeder Tierart gibt. Sollte dieser Satz definitiv bewiesen werden, so könnte man dann zwei Gruppen von Cytasen annehmen, von welchen die eine Anzahl Mikrocytasen, die andere dagegen eine Anzahl Makrocytasen enthielte. Diese Frage kann erst durch weitere Versuche endgültig entschieden werden.

Mehrere Forscher früherer Jahre stimmten darin überein, daß die mikrobizide Substanz der Blutsera, die wir als Mikrocytase bezeichnet haben (Alexin von Buchner, Alexin von Bordet, Komplement von Ehrlich), leukocytären Ursprungs ist. In diesem Sinne haben sich Denys[102], H. Buchner[103], Bordet[104] und ich selbst öfters ausgesprochen. Um diesen Satz zu verstärken, hat Gengou[105] sehr genaue Untersuchungen angestellt. Er erzielte bei Kaninchen und Hunden Pleuraexsudate, welche besonders reich an Mikrophagen waren. Durch Zentrifugieren konnte er die Leukocyten von den flüssigen Teilen der Exsudate abtrennen. Solche Zellen, mit der physiologischen Kochsalzlösung gewaschen, wurden dann mit Bouillon behandelt und einer Gefriertemperatur, nach dem Vorgange von Buchner, unterworfen. Zur Extraktion der Cytase wurden dann die auf eine solche Weise abgetöteten Leukocyten bei 37^{0} gehalten und schließlich für bakterizide Versuche verwendet. Es hat sich bei Gengou als allgemeines Resultat ergeben, daß der Mikrophagenextrakt stets mehr Bakterien abtötete, als das entsprechende Blutserum. Der größte Unterschied erwies sich in dieser Beziehung beim Hunde, da dessen Blutserum gar keine bakterizide Wirkung auf Milzbrandbacillen besitzt,

während der Extrakt von Mikrophagen eine große Anzahl von Mikrobien abgetötet. Der Mikrophagenextrakt aus Kaninchenexsudaten ist wirksamer den Milzbrand-, Typhus-, Colibacillen und den Choleravibrionen gegenüber, als das Blutserum derselben Tiere. Da sowohl Blutsera als Mikrophagenextrakte durch Erwärmen auf 55° ihre Wirksamkeit verlieren, so schien es nicht möglich, an der Identität der in denselben wirkenden Substanzen zu zweifeln.

Die Opposition gegen diese Ansicht wurde zunächst von R. Pfeiffer und seinen Schülern geführt. Es wurde darauf hingewiesen, daß Leukocytenextrakte von Tieren, deren Blutserum stark bakterientötend ist, sich als ganz unwirksam erweisen. Nun aber konnte dieser Einwand nicht Stich halten, da bei diesen Untersuchungen die Leukocyten zu stark, bis viermal, abgewaschen waren, wobei die bakterientötende Substanz leicht entfernt werden konnte.

Bei weiterer Nachforschung, welche von mehreren Beobachtern angestellt war, hat sich als sicher herausgestellt, daß Leukocyten wirksame bakterizide Stoffe enthalten. Während die letzteren aber von einigen Forschern für identisch mit Komplementen der Blutsera angesehen wurden, kamen andere Gelehrte zu einer gegenteiligen Ansicht. Schattenfroh[106] hat zuerst die Meinung ausgesprochen, daß die bakterientötenden Leukocytenextrakte viel widerstandsfähiger und überhaupt ganz anderer Natur als die Komplemente der Blutsera sind. Diese Theorie wurde dann von Pettersson[107] in mehreren Publikationen weiter entwickelt. Nach seiner Ansicht gibt es im Organismus zweierlei bakterizide Faktoren. Erstens in der Blutflüssigkeit gelöste Komplemente (Alexine), welche bei der Cholera- und Typhusinfektion die Hauptrolle spielen und zweitens die Endolysine, welche innig mit Leukocyten verbunden sind und bei ihrer Verletzung nach außen gelangen. Aus Leukocyten können sie, durch intermittierendes Erfrieren und Auftauen, leicht extrahiert werden. Wenig oder ganz unwirksam gegenüber Cholera- und Typhusbakterien, sind diese Endolysine befähigt, Proteus- und Milzbrandbacillen abzutöten.

Komplemente und Endolysine unterscheiden sich nach Pettersson auf Grund eigener Versuche sowie nach Untersuchungen seines Schülers Kling[61] und mancher anderer Forscher, in folgenden Punkten. Die ersteren sind thermolabil (bei 56° verlieren sie schon ihre mikrobizide Kraft), verlieren einen großen Teil ihrer Wirkung nach der Eintrocknung, gehen durch das Pukallsche Filter durch und widerstehen der Wirkung von Röntgenstrahlen. Die Endolysine sind dagegen thermostabil (sie werden nur bei 75° zerstört); sie widerstehen der Eintrocknung, gehen nicht durch das Pukallsche Filter und werden durch Röntgenstrahlen ihrer Wirksamkeit beraubt.

Komplemente wie Endolysine sind komplizierter Natur. Indem die ersteren das durch Erhitzen inaktivierte Blutserum wieder tätig machen, können die inaktivierten Endolysine durch native reaktiviert werden.

Aehnliche Ansichten haben auch mehrere andere Forscher ausgesprochen. So beschreibt Schneider unter dem Namen „Leukine" eine bakterientötende Substanz, welche er aus weißen Blutkörperchen extrahieren konnte und welche er für eine Art Sekrete dieser Zellen auffaßt. Es scheint jedoch, wie es von Pettersson angenommen wurde, daß diese Leukine mit Endolysinen identisch sind und ferner, daß sie nicht von lebenden Leukocyten ausgeschieden, sondern erst nach Verletzung dieser Phagocyten ins umgebende Medium befördert werden.

Das letzte Wort in dieser Frage ist noch lange nicht gesprochen worden. Es gehört noch eine große Zahl neuer Untersuchungen um das ganze Problem ins klare zu bringen. Vorläufig ist es erlaubt, die Vermutung auszusprechen, daß Mikrophagen, ebenso wie wir das im vorigen Kapitel für Makrophagen angenommen haben, zweierlei bakterizide Substanzen zu bilden vermögen. Erstens Mikrocytasen oder Komplemente, welche abgesondert werden, sobald der Leukocyt in seiner Integrität gestört wird, wie bei der Phagolyse. Der Leukocyt

braucht dabei nicht gerade abgetötet oder zerstört zu werden, da er mit großer Leichtigkeit diese mikrobiziden Stoffe in die Umgebung angibt. Auf der anderen Seite können die Mikrophagen ihrer Natur nach verschiedene Endolysine erzeugen, welche viel schwieriger als Mikrocytasen aus den Leukocyten zu erhalten sind. Nicht zu verwerfen ist auch die Möglichkeit, daß die so stark erscheinenden Unterschiede zwischen den Komplementen und Endolysinen auf der Verschiedenheit der Medien beruhen, in welchen sie erhalten werden: die ersteren finden sich im Blutserum, die letzteren dagegen in viel dickeren Leukocytenextrakten. Dazu kommt noch, daß bei der Extraktion der Endolysine andere, ihre Wirksamkeit hemmende Substanzen aus Leukocyten ausgeschieden werden. Es ist ja a priori sehr wahrscheinlich, daß in diesen Zellelementen, welche die Brutstätte verschiedenartiger Enzyme sind, entgegengesetzt wirkende Stoffe vorhanden sein können.

Diese Fragen harren noch einer sicheren Antwort. Jetzt aber kann man schon behaupten, daß in der natürlichen Immunität es Phagocyten sind, denen die hervorragendste Rolle zukommt. Die Beobachtung am lebenden Tiere lehrt, daß selbst gegenüber den Bakterien, welche am leichtesten durch Serumkomplemente abgetötet werden, wie Cholera- und Typhusbakterien, die Leukocyten eine große Menge davon aufnehmen und intraphagocytär verdauen. Andere Bakterien, wie Tuberkelbacillen, Staphylo- und Streptokokken, welche durch Komplemente nicht angegriffen werden, werden innerhalb der Phagocyten natürlich immuner Tiere zerstört. Wenn wir selbst annehmen, was uns jedoch sehr unwahrscheinlich dünkt, daß Komplemente nicht leukocytären Ursprungs sind, so bleibt ihr Wirkungskreis in den Flüssigkeiten des Organismus nur ganz untergeordnet.

Indem es jetzt allgemein oder fast allgemein angenommen wird, daß es Phagocyten sind, welche bei der natürlichen Immunität die größte Bedeutung haben, haben einige Forscher die Rolle einiger in der Blutflüssigkeit gelöster Stoffe hervorgehoben. In erster Linie müssen wir hier der Fixatoren oder Amboceptoren (sensibilisierende Substanz von Bordet) erwähnen.

Wir haben bei der Besprechung der Resorptionsvorgänge schon hervorgehoben, daß Cytasen der Hilfe von besonderen Fixatoren bedürfen, um auf Zellenelemente eingreifend wirken zu können. Ehrlich & Morgenroth sind der Meinung, daß die Hämolyse normaler Sera nur dann erfolgen kann, wenn das „Komplement“ (Makrocytase) durch einen „Amboceptor“ (Fixator) beeinflußt wird. Sie nehmen folglich das Vorhandensein zahlreicher Fixatoren in den normalen Blutseris an. Wie steht es nun in dieser Beziehung mit der Mikrocytase? Bordet[104] hat schon vor einer Reihe von Jahren beobachtet, daß das Blutserum normaler Pferde, welches an und für sich nicht imstande war Choleravibrionen in runde Körnchen zu verwandeln, dies aber sofort tat, als man ihm etwas normales Blutserum von Meerschweinchen beifügte. Er schloß daraus, daß das normale Pferdeserum eine für Choleravibrionen „sensibilisierende Substanz“ (Fixator) besitzt. Als Bordet aber später mit Gengou[108] die ganze Frage der Fixatoren normaler Blutsera in Angriff nahm, gelangte er zur Schlußfolgerung, daß solche Substanzen nur in seltenen Fällen und in geringer Quantität vorkommen. Zu diesen Ausnahmen muß ein bereits vor längerer Zeit von R. Pfeiffer[109] konstatierter Fall mitgerechnet werden, wo normales Ziegenserum eine auf Choleravibrionen „sensibilisierende“ Wirkung ausübte. Neuerdings hat Malvoz[110] die Frage der Fixatoren normaler Sera einer Revision unterworfen. Er fand, daß das Blutserum erwachsener normaler Hunde, welches bekanntlich keine bakterizide Wirkung auf Milzbrandbacillen besitzt, trotzdem eine bedeutende Menge einer hitzebeständigen Substanz enthält, welche am besten als eine Art Fixator aufgefaßt werden muß. Malvoz ist geneigt anzunehmen, daß diese Substanz in einer gewissen Beziehung zur natürlichen Immunität des Hundeorganismus gegenüber dem Milzbrande steht. Dafür spricht die Tatsache, daß das Blutserum junger Hunde, welche für Milzbrand ziemlich empfänglich sind, keinen spezifischen Fixator enthält. Aber eine ganze Reihe anderer Befunde widerspricht der Schlußfolgerung von Malvoz. So hat dieser Forscher

selbst konstatiert, daß das Blutserum von Rindern keinen Fixator für abgeschwächte Milzbrandbacillen (die PASTEURschen Schutzstoffe) enthält, obwohl diese Tiere doch durchaus immun gegenüber diesen Mikrobien sind. Auch haben BORDET & GENGOU [108] beobachtet, daß das Blutserum erwachsener normaler Meerschweinchen keinen Fixator für das erste Milzbrandvaccin besitzt, obwohl gerade eins der Hauptcharakteristika des letzteren seine Unschuldigkeit für solche Meerschweinchen ist. Auf der anderen Seite muß es beachtet werden, daß in sehr zahlreichen anderen Versuchen von BORDET & GENGOU das normale Blutserum sich als frei von Fixatoren für eine ganze Reihe von Bakterien (Coccobacillus der menschlichen Pest, Typhusbacillen usw.) erwiesen hat. BAIL [111] hat einige, denjenigen von MALVOZ analoge Angaben mitgeteilt.

Eng verknüpft mit der Frage der Fixatoren ist die im Jahre 1903 von Sir A. WRIGHT [112] ausgesprochene Theorie der Opsonine. Wenn man die Phagocytose außerhalb des Organismus, in vitro, untersucht, so findet man ohne Mühe, daß die schnellste und ausgiebigste Aufnahme der Bakterien in dem Falle erfolgt, wenn die Leukocyten sich im nichterhitzten Blutserum befinden. Erhitzt man aber das letztere auf 56°, oder ersetzt man dasselbe mit physiologischer Kochsalzlösung, so wird die Phagocytose sehr spärlich. Diese Tatsachen, welche schon früher von SAWTSCHENKO und DENYS mit seinen Schülern konstatiert wurden, wurden dann von WRIGHT und DOUGLAS [112] sehr genau untersucht. Es hat sich dabei herausgestellt, daß es im normalen Blutserum eine thermolabile Substanz gibt, welche sich auf Bakterien fixiert. Infolge davon werden diese Mikroorganismen mit großer Leichtigkeit von Leukocyten aufgenommen. Die betreffende Substanz wurde von WRIGHT unter dem Namen Opsonin bezeichnet. Eine Zeitlang konnte man glauben, daß Phagocytose nur dann erfolgen kann, wenn die Bakterien zuerst durch das normale Blutserum immuner Tiere opsonisiert werden. Später hat es sich aber herausgestellt, daß auch eine „spontane Phagocytose" (WRIGHT) existiert, welche im erhitzten Blutserum oder in der physiologischen Kochsalzlösung stattfindet; nur nimmt diese Phagocytose eine längere Zeit in Anspruch, als die Phagocytose im unerhitzten Serum.

Nachdem diese Tatsachen auf ihre Richtigkeit geprüft wurden, haben sich mehrere Forscher darum bemüht, die Natur der Opsonine näher zu präzisieren. Nach übereinstimmenden Angaben von NEUFELD und RIMPAU [113], BAECHER [114], LEVADITI und INMANN [115], LEVADITI und KÖSSLER [116], sind die Opsonine normaler Blutsera nichts anderes als Cytasen (Komplemente). Die Identität beider wird noch durch die von MUTERMILCH [117] konstatierte Tatsache befestigt, daß die Filtration unter Druck das Blutserum seines Komplementes und zugleich seiner opsonischen Wirkung beraubt, während die Fixatoren (Amboceptoren) mit Leichtigkeit dabei durch das Filter durchgehen.

Die Frage über das Vorhandensein der Opsonine in der Blutflüssigkeit immuner Organismen deckt sich somit mit derjenigen der Existenz der Cytasen im Blutplasma. Beide können zurzeit nicht definitiv gelöst werden aus dem Grunde, weil selbst die besten künstlich erhaltenen Blutplasmen mit der Blutflüssigkeit des lebenden Körpers nicht übereinstimmen (LÖWIT). Erst in der Zukunft wird man entscheiden können, ob die opsonische Wirkung im immunen Organismus die gleiche ist wie diejenige, welche man in vitro beobachtet.

Daß Leukocyten sich viel energischer verhalten im unerhitzten Blutserum als im erhitzten oder in der physiologischen Kochsalzlösung, hat nichts befremdendes an sich, da diese Zellelemente sich durch eine außerordentliche Empfindlichkeit auszeichnen. HAMBURGER mit seinen Mitarbeitern HEKMA [118] und DE HAAN [119] hat zur Genüge nachgewiesen, daß die leichtesten Abweichungen in der chemischen Zusammensetzung der Flüssigkeit, in welcher Leukocyten leben, einen starken Einfluß auf ihre phagocytäre Tätigkeit ausüben. Es genügt zum Blutserum 0,01 Proz. NaCl hinzuzusetzen, um die Phagocytose auf 17,3 Proz. abzuschwächen. Eine Menge von 0,001 Proz. Chininsulfat ist bereits giftig für Leukocyten.

Bei einer solchen Empfindlichkeit ist es begreiflich, daß von Mikrobien ausgeschiedene Stoffe einen hindernden Einfluß auf Phagocytose ausüben können. Wir haben schon oben geschildert, wie der pathogene Sproßpilz der Daphnien die weißen Blutkörperchen dieser Tiere zerstört. Die Bakterien erzeugen ebenfalls Leukocytengifte, worunter wir die Leukocydine der Staphylokokken (VAN DE VELDE) und der Pyocyaneusbacillen (GEORGIEWSKY) erwähnen können. Aehnliche Substanzen sind von BAIL [120] unter dem Namen Aggressine bezeichnet worden. Im infizierten Organismus oder in den Kulturauszügen erzeugt (WASSERMANN

und Citron), üben sie einen so schädlichen Einfluß auf Leukocyten, daß dadurch die natürliche Immunität aufgehoben werden kann.

Nachdem es definitiv festgestellt worden war, daß Phagocyten lebende Mikrobien aufnehmen, hat man die Frage aufgeworfen, ob diese Zellen auch imstande seien, vollvirulente Bakterien, d. h. solche, welche befähigt sind, tödliche Infektionen und ernste Intoxikationen zu erzeugen, aufzufressen. Man hat sogar versucht, eine Theorie aufzustellen, nach welcher die Infektionserreger zuerst eine Abschwächung durch humorale Einflüsse erleiden müssen, um erst später von Phagocyten definitiv vernichtet zu werden. Diese Auffassung hat besonders Bouchard[121] mit seinen Schülern Charrin & Roger[122] verteidigt auf Grund ihrer Versuche über den Bacillus des blauen Eiters. Nun konnte man schon seit den frühesten Untersuchungen von Pasteur[123] die Ueberzeugung gewinnen, daß diese Theorie unmöglich den tatsächlichen Verhältnissen entsprechen kann. Der große Forscher hat nachgewiesen, daß Meerschweinchen eine natürliche Immunität gegenüber dem Coccobacillus der Hühnercholera besitzen und daß dieser Infektionserreger bei ihnen nur lokale Abszesse erzeugt. Während nun die Meerschweinchen mit diesen Eiteransammlungen ganz gut durchkommen, genügt es, einen Tropfen solchen Eiters unter die Haut von Kaninchen einzuimpfen, damit die letzteren an schnell tödlicher Septikämie erliegen. Es folgt daraus, daß Hühnercholeramikrobien im Eiter von Meerschweinchen durchaus nicht abgeschwächt in ihrer Virulenz waren. Ganz ähnliche Befunde konnten später bei einer ganzen Reihe anderer Infektionskrankheiten festgestellt werden, woraus der Schluß unvermeidlich ist, daß die natürliche Immunität keineswegs von der Virulenzabschwächung der Mikrobien abhängt. Unter dem Einfluß solcher Tatsachen wurde die Theorie der Abschwächung auch von ihren Urhebern nicht mehr verteidigt.

Es ist ferner vermutet worden, daß der Grund der natürlichen Immunität in der Unmöglichkeit für den Infektionserreger, seine giftigen Toxine zu produzieren, liegt. So hat man geglaubt, daß ein Bakterium, welches in den natürlich immunen Organismus gelangt, dort einige Zeit sein Leben und seine Virulenz noch behalten kann. Da es aber nicht imstande ist, auf einem ihm unpassenden Boden sein Gift zu bilden, so bleibt es ein unschuldiges Wesen, welches dann ohne Mühe abgetötet werden kann. Nun steht dieser Vermutung die Tatsache entgegen, daß bei der natürlichen Immunität gegenüber Tetanus-, Rauschbrandbacillen und den Bacillen des malignen Oedems diese Bakterien einen guten Nährboden für Toxinbildung besitzen, aber in ihrer mörderischen Tätigkeit durch Phagocyten verhindert werden. Dieselben Tatsachen genügen auch, um die Meinung zu widerlegen, nach welcher die natürliche Immunität gegenüber Infektionserregern auf einer Unempfindlichkeit für entsprechende Toxine oder auf einer Produktion von Antitoxinen beruht. Da die beiden letzteren Ansichten von niemandem mehr verteidigt werden, so ist es überflüssig, näher in ihre Kritik einzugehen.

Wenn man die gesamte Summe der Erscheinungen, welche der natürlich immune Organismus uns darbietet, ganz vorurteilsfrei übersieht, so wird man ohne Zweifel zu dem Schlusse gelangen, daß die Phagocytose derjenige Vorgang ist, welcher die allgemeinste Verbreitung und die allergrößte Bedeutung aufweist. Damit die Phagocyten ihre verteidigende Rolle erfüllen, ist es gar nicht nötig, daß ein-

gedrungene Infektionserreger durch die in Körperflüssigkeiten gelösten mikrobientötenden Substanzen, oder durch Fixatoren und Antitoxine getroffen werden. Die Phagocytose wird durch die Empfindlichkeiten der Phagocyten geleitet, durch die Beweglichkeit ihres lebenden Protoplasma ins Werk gesetzt und die chemische Einwirkung der intracellulären Verdauungsfermente auf aufgefressene Mikrobien abgeschlossen.

V. Phagocytose bei der erworbenen Immunität gegenüber Infektionskrankheiten.

Nachdem es genügend festgestellt worden war, daß bei der natürlichen Immunität gegenüber verschiedensten Infektionserregern und in der ganzen Tierreihe der Phagocytose die hervorragendste Bedeutung zukommt, müssen wir nunmehr zu der Frage übergehen, ob dieselben Erscheinungen gleichfalls bei der erworbenen Immunität eine so bedeutende Rolle spielen. Es war zwar seit lange bekannt, daß nach Ueberstehung einiger Infektionskrankheiten der Organismus dadurch vor einem neuen Ueberfallen geschützt wird oder daß künstliche Einimpfungen der Kuhpocken vor Blattern zu schützen imstande sind. Die wissenschaftliche Kenntnis der erworbenen Immunität konnte indessen erst nach dem Auffinden der pathogenen Mikrobien und der Schutzimpfung mit abgeschwächten Kulturen derselben erlangt werden.

Als es mir gelang, die vollkommene Parallele zwischen der natürlichen Immunität einiger Wirbeltiere und der Phagocytose gegenüber Milzbrandbacillen festzustellen, ging ich sofort zur Untersuchung der phagocytären Reaktion bei der künstlich erworbenen Immunität über. Durch äußere Umstände gebunden, konnte ich in dieser Beziehung damals (1884) nur die erworbene Immunität der Kaninchen gegenüber dem Milzbrande in den Kreis meiner Beobachtungen ziehen. Trotz aller Mängel war es mir jedoch möglich zu konstatieren, daß bei einem Kaninchen, welches die Schutzimpfungen gut überstanden hatte, die Phagocytose nach der Einimpfung von Milzbrandbacillen ungemein heftiger auftrat, als bei empfänglichen, nicht geschützten Kaninchen. Zur Zeit wollte man diesen Befund nicht akzeptieren, indem man auf die von meinem Willen unabhängige Mangelhaftigkeit meiner Versuche zu hohen Wert legte. Es gelang mir[124] indessen wenige Jahre später, den sicheren Nachweis zu liefern, daß in allen Fällen dem Milzbrande gegenüber gut geschützte Kaninchen durch eine sehr energische Phagocytose auf Einführung der Bacillen antworten. Während die subkutane Einimpfung dieser Bakterien an normale, nicht geschützte Kaninchen von einer spärlichen serösen Exsudation gefolgt wird, wobei viele Milzbrandbacillen und wenig oder gar keine Leukocyten in der Exsudatflüssigkeit vorhanden sind, hat die Einführung derselben Mikrobien bei geschützten Kaninchen eine ausgiebige Leukocytenansammlung zur Folge, wobei sämtliche Bacillen binnen kurzem von Phagocyten aufgenommen und intracellulär abgetötet und verdaut werden. Die Einimpfung eines Tröpfchens solcher Exsudate an milzbrandempfindliche Tiere, wie Meerschweinchen und Mäuse, ist meistens von einer tödlichen Milzbrandseptikämie gefolgt, woraus auf die Virulenzerhaltung solcher aufgenommenen Bacillen zu schließen ist.

Da diese Resultate eine ganz fundamentale Bedeutung für die ganze Frage nach der Rolle der Phagocytose bei der erworbenen Immunität aufweisen, so ist es unumgänglich notwendig, etwas länger bei ihnen zu verweilen. Wenige Stunden nach der subkutanen Einführung von Milzbrandbacillen unter die Haut oder in die Bauchhöhle von immunisierten Kaninchen findet man keine freien Mikrobien in der Exsudatflüssigkeit, da sämtliche bereits innerhalb der massenhaft angehäuften Leukocyten sich vorfinden. Viele davon erscheinen blaß und körnig zerfallen, während einige noch vollkommen normal aussehen. Die ersteren nehmen auch schlecht die Farbstoffe an, während die letzteren sich intensiv mit den verschiedensten basischen Anilinfarben färben lassen. Daß es unter solchen Bacillen noch lebende gibt, erhellt aus der Tatsache, daß Exsudate, in welchen sämtliche Bacillen im Innern von Phagocyten enthalten sind, noch tödlichen Milzbrand hervorrufen können. Da der letztere an anderen Tierarten als Kaninchen erzielt wurde, konnte man leicht den Einwand erheben, daß die Bacillen doch eine gewisse Abschwächung erlitten haben. Meerschweinchen und Mäuse, an welchen positive Resultate erzeugt wurden, sind ja milzbrandempfänglicher als Kaninchen. Dieser Einwand kann leicht durch Untersuchungen an Meerschweinchen gehoben werden. Es ist allgemein bekannt, daß es sehr schwer ist, diese Nager gegen Milzbrand zu schützen. Es ist trotzdem, zuerst Wernicke, gelungen, einige Meerschweinchen gegen Milzbrand immun zu machen. De Nittis[125] hat diese Entdeckung bestätigt und Marino konnte in meinem Laboratorium seine Versuche fortsetzen. Der letztgenannte Autor fand eine Methode, um Meerschweinchen zu schützen, wodurch er in den Stand gesetzt war, eine ganze Reihe solcher Tiere gegen Milzbrand zu immunisieren. Nach der Einimpfung der Milzbrandbacillen unter die Haut dieser immunisierten Meerschweinchen konnte Marino eine baldige und sehr starke Phagocytose beobachten. Einige Stunden nach dem Beginne des Experimentes werden sämtliche Bacillen in Leukocyten eingeschlossen. Trotzdem bleibt das Exsudat noch eine Zeitlang vollkommen virulent für andere, normale Tiere derselben Species. Noch 24 Stunden und sogar später nach der Einführung der sporenlosen Milzbrandbacillen unter die Haut genügte ein Tropfen phagocytären Exsudats, um frischen Meerschweinchen tödlichen Milzbrand zu geben. Somit muß die Frage der Vitalität und der Virulenz von Phagocyten aufgefressener Bacillen im positiven Sinne entschieden werden.

Diese Milzbrandversuche haben noch eine anderweitige Bedeutung für die allgemeine Frage der erworbenen Immunität. Seit meinen ersten Studien des Milzbrandes habe ich mein Augenmerk auf eine etwaige Bedeutung des Blutserums immunisierter Tiere gerichtet. Schon im Jahre 1886 konnte ich die Tatsache konstatieren[126], daß das Blutserum gut geschützter Hammel einen guten Nährboden für Milzbrandbacillen darstellt, daß aber die letzteren bei Kaninchen keine tödliche Infektion hervorzurufen imstande sind. Daraus schloß ich auf eine Abschwächung der Virulenz unter dem Einflusse des Blutserums immunisierter Tiere. Später hat sich indessen diese Auffassung als unrichtig erwiesen. Die im Blutserum immunisierter Hammel erzogenen Milzbrandbacillen behalten ihre Virulenz, werden aber durch einen eigentümlichen Einfluß der im Serum befindlichen Substanzen in ihrer pathogenen Wirkung verhindert.

Es lag nahe, diesem schützenden Einflusse der Körperflüssigkeiten eine weittragende Bedeutung zuzuschreiben, was auch bald von mehreren Seiten mit großem Nachdruck geschah. Man nahm an, daß die Säfte lebender immunisierter Tiere eine schützende Substanz enthalten, welche auf Bakterien einwirkt und dieselben aus mörderischen Parasiten in unschuldige Saprophyten verwandelt. Die letzteren können dann in zweiter Instanz von Phagocyten aufgenommen und definitiv vernichtet werden, wobei diesen Zellen nur eine ganz untergeordnete Rolle zukommen würde.

Die Versuche an gegen Milzbrand immunisierten Meerschweinchen sind imstande, die soeben wiedergegebene Ansicht vollständig zu widerlegen. Schon WERNICKE hat bemerkt, daß das Blutserum seiner stark immunisierten Meerschweinchen außer stande war, normale Tiere gegen Milzbrand zu schützen. Dies erschien um so auffallender, als viel weniger immunisierte Tauben ein deutlich präventiv wirkendes Serum lieferten. Angesichts der großen allgemeinen Bedeutung dieser Tatsachen, zumal WERNICKE seine Versuche nicht veröffentlicht hat, habe ich DE NITTIS aufgefordert, dieselben in meinem Laboratorium zu wiederholen. Der letzgenannte Forscher konnte die Resultate von WERNICKE vollkommen bestätigen, da in seinen Versuchen das Blutserum immunisierter Meerschweinchen keine Wirkung besaß, während dasjenige geschützter Tauben eine solche offenbarte. Nicht befriedigt durch diese Untersuchungen, habe ich MARINO veranlaßt, dieselben noch weiter zu führen. Nach vielen vergeblichen Versuchen gelang es MARINO, eine gewisse Wirkung des Blutserums gut geschützter Meerschweinchen zu konstatieren. Dazu brauchte er aber eine große Quantität Flüssigkeit — 2 ccm — um in einigen Fällen geimpfte normale Tiere vor tödlichem Milzbrande zu retten. Und dabei war es unvermeidlich, die Menge Blutserum mit der Milzbrandkultur zu vermischen. Impfte MARINO Serum und Kultur auf zwei verschiedenen Stellen des Organismus, so gingen die Meerschweinchen unrettbar an Milzbrandseptikämie zugrunde.

Nun kam es vor, daß immunisierte Meerschweinchen ein Blutserum lieferten, welches in Uebereinstimmung mit WERNICKE und DE NITTIS gar keine Schutzwirkung aufwies; und trotzdem wurden die unter die Haut solcher Tiere eingeimpften Milzbrandbacillen binnen kurzem von Leukocyten aufgenommen und vernichtet. Subkutane Exsudate dieser Meerschweinchen erwiesen sich für normale Tiere derselben Species als vollkommen virulent und tödlich. In einem solchen Falle ist es nicht möglich, eine vor der Phagocytose ablaufende Wirkung der Körpersäfte anzunehmen. Uebrigens, selbst bei Meerschweinchen, deren Blutserum präventiv wirkte, konnte man nicht ernsthaft an einen irgendwie bedeutenden Einfluß der in der Exsudatflüssigkeit gelösten Stoffe denken, da deren Menge zu gering ist im Verhältnis zu 2 ccm, welche notwendig waren, um einen präventiven Effekt bei normalen Tieren zu erzielen.

Die bei Meerschweinchen erhaltenen Resultate stimmen ganz gut mit der ganzen Summe von Tatsachen, welche über die erworbene Milzbrandimmunität anderer Säugetiere gewonnen wurden, überein. Wir haben oben hervorgehoben, daß ich keine Milzbrandseptikämie bei Kaninchen erzielen konnte, welche mit im Blutserum stark immunisierter Hammel kultivierten Milzbrandbacillen geimpft wurden. Später hat es sich herausgestellt, daß dies durch präventive Wirkung des

Hammelserums erklärt werden muß. Nun konnte man in anderen Fällen bei immunisierten Hammeln keinen schützenden Einfluß des Blutserums auf normale Tiere wahrnehmen. Sobernheim[127] hat auch gesehen, daß das Blutserum verschiedener, obwohl auf gleiche Weise immunisierter Hammel in bezug auf seine Präventivwirkung sich verschieden verhält. v. Behring[115] hat so wenig von diesem präventiven Einflusse gesehen, daß er das Beispiel der von Hammeln erworbenen Milzbrandimmunität in die Kategorie der phagocytären Immunität einreiht. Um die Bedeutung dieser letzten Tatsache zu würdigen, habe ich nur daran zu erinnern, daß während langer Jahre v. Behring die Rolle der Phagocyten bei der Immunität überhaupt nicht anerkennen wollte.

Die genauere Betrachtung der Vorgänge, welche sich bei der gegenüber Milzbrandbacillen künstlich erworbenen Immunität abspielen, läßt keinen Zweifel darüber, daß es die Phagocytose ist, welche dabei die Hauptrolle erfüllt. Die Eigenschaften der Körperflüssigkeiten, wie die bakteriziden, präventiven, agglutinativen und antitoxischen Wirkungen, treten in diesem Beispiele der Immunität ganz in den Hintergrund. Diese Schlußfolgerungen, welche aus dem oben Mitgeteilten schon deutlich hervortreten, lassen sich noch durch andere Tatsachen bekräftigen. In dieser Beziehung sind die Untersuchungen über die Vorgänge bei der Immunität von Ratten gegenüber dem Milzbrande von hervorragendem Intersse. Es ist nicht nötig, hier über die bakterizide Wirkung des Rattenserums zu berichten, da diese Frage sicherlich in anderen Abschnitten dieses Handbuchs eine genügende Bearbeitung finden wird. Es ist aber unvermeidlich, über die Erscheinungen der erworbenen Immunität der Ratten gegenüber Milzbrandbacillen zu berichten, wie sie von Sawtschenko[128] in meinem Laboratorium studiert worden sind. Dieser Forscher konnte weiße Ratten durch Schutzimpfungen gegenüber dem Milzbrande gut immunisieren. Er fand, daß nach subkutaner Einführung von Milzbrandbacillen dieselben nach wenigen (3—5) Stunden von sehr zahlreichen Leukocyten aufgenommen werden. Die aufgefressenen Bacillen bleiben dann längere Zeit lebend und virulent, da es genügt, einen Tropfen solchen subkutanen Exsudates an normale Ratten oder Meerschweinchen zu verimpfen, um eine tödliche Milzbrandseptikämie zu erzeugen. Was dabei besonders merkwürdig erscheint, ist die Tatsache, daß die flüssigen Teile des Exsudats keine bakterizide Wirkung offenbaren und daß sogar die bakterizide Wirkung des außerhalb des Organismus präparierten Blutserums sich in keiner Weise von derjenigen des Blutserums normaler, empfänglicher Ratten unterscheidet.

Die Erscheinungen der erworbenen Milzbrandimmunität verschiedener daraufhin untersuchten Tierarten weisen deutlich auf die hervorragendste Bedeutung der Phagocytose hin. Aber es kann leicht vermutet werden, daß es sich hier nur um ein isoliertes Beispiel handelt und daß in anderen Fällen erworbener Immunität es im Gegenteil die veränderten Körpersäfte sind, welche die Hauptrolle spielen. Da es uns unmöglich ist, hier eine große Reihe Infektionskrankheiten vergleichend zu behandeln, wollen wir sofort zu einer solchen übergehen, welche stets den Vertretern der Humoraltheorien der erworbenen Immunität die besten Argumente lieferte. Ich meine die künstliche Infektion, welche bei intraperitonealer Einimpfung Kochscher Choleravibrionen an Meerschweinchen erzielt werden kann. Es

gehören dazu bedeutende Mengen stark virulenter Choleravibrionen, da der Organismus normaler Meerschweinchen eine nicht zu unterschätzende natürliche Immunität aufweist. Dank der letzteren gelingt es sehr leicht, diesen Tieren eine erhöhte erworbene Immunität zu verschaffen, wobei man auf sehr verschiedene Weise dieses Ziel erreichen kann.

Nachdem man lange Zeit vergebens nach einer extracellulären Abtötung von Mikrobien bei immunen Tieren suchte, gelang es im Jahre 1894 R. Pfeiffer, eine solche in der peritonealen Flüssigkeit gegen Choleravibrionen immunisierter Meerschweinchen zu finden. Kurze Zeit nach der Einspritzung einer gewissen Menge stark virulenter und lebhaft beweglicher Choleravibrionen, in die Bauchhöhle solcher Tiere, werden die letzteren in unbewegliche kokkenähnliche Kügelchen verwandelt, wobei eine große Anzahl derselben absterben. Pfeiffer hat diesen Abtötungsvorgang sehr sorgfältig und genau untersucht, weshalb ich vorschlug, die ganze Erscheinung unter dem Namen des „Pfeifferschen Phänomens" in die Wissenschaft aufzunehmen. Diese Erscheinung hat nun seitdem eine große Bedeutung erlangt und sich die größte Aufmerksamkeit der Forscher erworben. Hier müssen wir sie natürlich nur so weit berücksichtigen, als sie auf die Vorgänge der Phagocytose ein Licht zu werfen imstande ist.

Es ist sehr auffallend, daß die Einführung von Choleravibrionen in die Peritonealhöhle immunisierter Meerschweinchen sofort ein fast gänzliches Verschwinden der Phagocyten zur Folge hat. Während die Bauchhöhlenflüssigkeit normaler Tiere trübe erscheint infolge einer großen Anzahl verschiedenartiger Leukocyten, ist das Exsudat der mit Vibrionen infizierten immunisierten Meerschweinchen fast durchsichtig und nur sehr wenig getrübt durch die Vibrionen selbst. Von Leukocyten bleiben nur die kleinen Lymphocyten, während die Makro- und Mikrophagen aus der Peritonealflüssigkeit verschwinden. Sie sammeln sich zu Klumpen an und bleiben an der Wand der Bauchhöhle, namentlich auf dem Netze haften. Die so veränderten Phagocyten erscheinen ganz oder fast vollständig bewegungslos und unfähig, fremde Körper in sich aufzunehmen. Es ist unzweifelhaft, daß diese Zellen, unter dem Einflusse der Einspritzung, eine starke Beschädigung erfahren, die ich unter dem Namen der Phagolyse bezeichnet habe. Ich konnte nun feststellen, daß diese Phagolyse sich in einem ursächlichen Zusammenhange mit der extracellulären Abtötung der Choleravibrionen befindet. Um die letztere aufzuheben, genügt es, die Phagocyten der Bauchhöhle vor der Phagolyse zu schützen. Dies gelingt ohne Mühe, wenn man, etwa 24 Stunden vor der Einführung der Vibrionen, in die Bauchhöhle der Meerschweinchen einige Kubikzentimeter frisch gekochter Bouillon, physiologischer Kochsalzlösung und dergleichen einspritzt. Dabei kommt es zuerst zu einer heftigen Phagolyse, welche indessen von einer sehr zahlreichen Ansammlung frischer und kräftiger Phagocyten gefolgt wird. Die letzteren erlangen nun eine gewisse Angewöhnung für Insulte und lassen sich nicht leicht am nächsten Tage durch die Einführung der Cholerakultur beeinflussen. Anstatt sich in Klumpen zu agglutinieren, bleiben die Phagocyten isoliert und gut befähigt ihre Bewegungen auszuführen und die Vibrionen rasch aufzufressen. Es erfolgt somit keine Phagolyse, aber auch keine extracelluläre Verwandlung der Vibrionen in Kügelchen, d. h. kein Pfeiffersches Phänomen. Dieses Experi-

ment habe ich sehr oft wiederholt und zahlreichen Kollegen des Pasteurschen Institut demonstriert. Mehrere Forscher, unter welchen ich Bordet[104], Salimbeni[129], Cantacuzène[130] und Garnier[131] nenne, haben in ihren eigenen Versuchen sich von der Richtigkeit meiner Angaben überzeugt. Ich weiß wohl, daß es einigen Beobachtern nicht gelingen wollte, die Aufhebung der Phagolyse mit der gleichzeitigen Aufhebung des Pfeifferschen Phänomens zu erzielen. So konnte Abel[132] bei von ihm präparierten Meerschweinchen die Vibrionen zum Teil von Phagocyten aufgenommen, zum Teil aber noch extracellulär verschwinden sehen. Der Grund davon lag aber sicherlich darin, daß Abel seine Versuche nicht in genügender Anzahl und nicht in den günstigen Bedingungen anstellte. Da R. Pfeiffer einige Zweifel an der Richtigkeit meiner Angaben mir gegenüber äußerte, erklärte ich mich bereit, während meines Aufenthaltes in Berlin im Jahre 1899, ihm meinen Versuch ad oculos zu demonstrieren. R. Pfeiffer mußte dazu die nötigen Vorbereitungen machen. Als ich aber in sein Laboratorium kam, um die Demonstration zu machen, wartete ich vergebens auf ihn. Dieser Umstand ist um so mehr zu bedauern, als Pfeiffer in seinem Königsberger Laboratorium eine Arbeit durch seinen Schüler Ascher[139] machen ließ, welche gerade die Untersuchung über das Aufheben des Pfeifferschen Phänomens zum Zwecke hatte. Ascher konnte indessen meine Angaben nicht bestätigen, was lediglich durch seine Technik erklärt werden kann. Er hat beständig, trotz der Behandlung mit frischer Bouillon, „völlige Auflösung der Bakterien außerhalb der Leukocyten, dabei allerdings auch Vorhandensein von Granulis in Leukocyten, aber in so relativ geringer Zahl, daß dieses letztere nur als eine nebensächliche Erscheinung gedeutet werden kann", beobachtet. Es ist nicht zu bezweifeln, daß Ascher in seinem Versuche die Phagolyse aufzuheben nicht imstande war. Er macht keine Angaben über die Beschaffenheit der aus der Bauchhöhle nach der Choleraeinspritzung entnommenen Exsudate; es ist aber sicher, daß die letzteren entweder durchsichtig oder kaum trübe waren, während bei der richtigen Versuchsanordnung das Exsudat dick und eiterartig aussehen muß. Nur in solchen Fällen wird die Phagolyse vollständig vermieden und die Phagocytose so komplett wie möglich. Ich kenne diese Erscheinungen seit mehreren Jahren und bin gerne bereit, sie denjenigen Kollegen zu demonstrieren, welche sich eine eigene Meinung darüber machen wollen.

Uebrigens ist eine solche Demonstration überflüssig geworden seitdem Bail[120] meine Angaben durch eine große Reihe genauer Versuche bestätigt hat. Die besten Resultate bekam Bail, als er seine Meerschweinchen am ersten Tage mit Aleuronat intraperitoneal behandelte und am folgenden Tage eine Einspritzung von Aleuronat und spezifischem Serum machte, worauf er erst am dritten Versuchstage lebende Choleravibrionen in die Bauchhöhle einspritzte. Unter solchen Bedingungen wurden diese Bakterien unbeweglich, verloren aber ihre Vibrionengestalt nicht in der extracellulären Exsudatflüssigkeit bis 50 Minuten nach der Einspritzung, wo nur wenig freie Vibrionen übrig blieben.

Die Phagolyse kann nicht allein in der Bauchhöhle, sondern auch in den Blutgefäßen aufgehoben werden. In letzterer Beziehung verweise ich auf die Arbeit von Levaditi[134], welche er in meinem Laboratorium gemacht hat.

Wir haben schon im vorigen Kapitel gesehen, daß das Blutplasma normaler Tiere keine Mikrocytase enthält. Dies wurde am evidentesten durch die vergleichenden Versuche von Gengou bewiesen. Nun konnte man denken, daß unter dem Einflusse der Mikrobien bei solchen Tieren und noch besser bei immunisierten, die Cytase im Plasma mehr oder weniger reichlich erscheinen wird. Aeltere Versuche von Bordet[95] lehrten schon allerdings, daß bei gegen Choleravibrionen immunisierten Meerschweinchen die ins Blut eingespritzten Vibrionen im Blutplasma keine Verwandlung in Kügelchen erfahren, sondern sehr rasch von Phagocyten aufgenommen werden. Bordet hat diese Frage indessen nicht weiter verfolgt und sich ausschließlich auf Untersuchung der Blutpräparate beschränkt. Dies war der Grund, warum ich Herrn Levaditi vorschlug, sich eingehender mit diesem Gegenstande zu beschäftigen. Da in einer seiner früheren Publikationen Levaditi[138] sich sehr entschieden gegen die Cellulartheorie der Immunität ausgesprochen hatte, so wollte ich ihm zugleich Gelegenheit geben, einen der wichtigsten und schwierigsten Punkte der Phagocytenlehre näher zu berühren. Als ausgezeichneter Techniker und überhaupt sehr gut für das Studium der Immunitätserscheinungen vorbereitet, ging Levaditi ans Werk, wobei ich fortwährend selbst Augenzeuge seiner Untersuchungen sein konnte.

Sogleich nach der Einspritzung einer Cholerakultur in das zirkulierende Blut gut geschützter Meerschweinchen beobachtet man ein auffallendes Verschwinden von Leukocyten aus dem Kreislaufe. Wie bei der Phagolyse in der Peritonealhöhle, bleiben im kreisenden Blute fast nur noch einzelne kleine Lymphocyten übrig. Ueberaus die meisten anderen weißen Blutkörperchen, d. h. die eigentlichen Blutphagocyten, verschwinden aus dem peripherischen Blute. Bei Untersuchung der letzteren findet man noch hier und da Choleravibrionen, welche indessen kein Pfeiffersches Phänomen aufweisen, d. h. welche ihre normale Gestalt vollkommen behalten.

Um das Schicksal der aus dem Kreislaufe verschwundenen Phagocyten zu verfolgen, mußte Levaditi Schnitte aus inneren Organen verfertigen und da konnte er sehen, namentlich in den Lungen, daß verschiedenartige Leukocyten ganze Haufen bildeten und unzweideutige Merkmale der Phagolyse an sich trugen. Die letztere offenbarte sich durch Degeneration des Protoplasma und abnorm starke Färbbarkeit der Kerne. In dieser Weise angegriffene Phagocyten konnten wenig oder gar keine Vibrionen in sich aufnehmen, wurden aber durch ganze Haufen dieser Bakterien umgeben, welche mehr oder weniger vollständig das Pfeiffersche Phänomen aufwiesen. Hier handelte es sich sicher um eine extracelluläre Abtötung der Choleravibrionen, welche indessen nicht inmitten des Blutplasma, sondern in nächster Nähe der Klumpen von Mikrophagen erfolge. Der Unterschied dieser Angaben von Levaditi und die älteren Beobachtungen Bordets lassen sich ohne Mühe in Einklang bringen. Der letztgenannte Forscher untersuchte ausschließlich das peripherische Blut, in welchem sämtliche Vibrionen noch intakt waren, was mit den Wahrnehmungen von Levaditi durchaus übereinstimmt. Der letztere zog aber noch in den Bereich seiner Forshungen die inneren Organe, in welchen das Pfeiffersche Phänomen zwar außerhalb der Phagocyten, aber doch in deren nächster Nähe stattfand.

In diesem Versuche ist es schon leicht, sich von der Zusammengehörigkeit der Phagolyse mit der Körnchenumwandlung der Vibrionen zu überzeugen. Wenn man aber durch vorhergehende Einspritzung frischer körperwarmer Bouillon die Phagolyse ganz oder nur teilweise beseitigt, so findet man dementsprechend keine oder nur wenige in Kügelchen umgewandelte Choleravibrionen. Da im Blutstrome die Phagolyse nie so weit geht wie in der Bauchhöhle, so kann man im ersteren beständig eine ergiebige und sehr rasche Phagocytose beobachten (Fig. 3). Wenn man aber die Phagolyse noch verringert

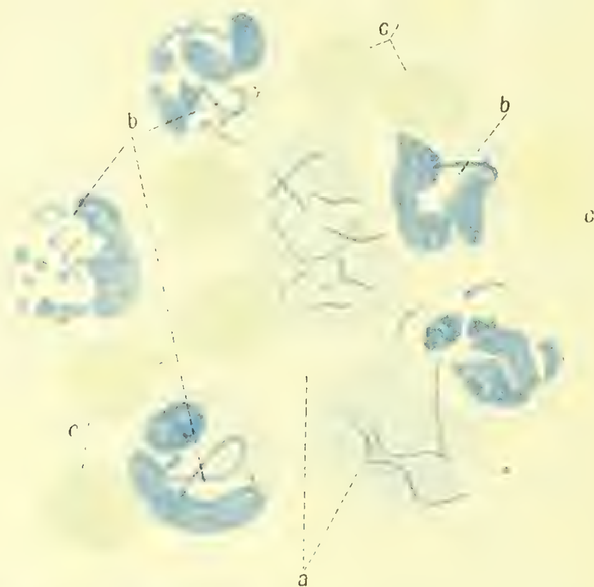


Fig. 3. Schicksal der Choleravibrionen fünf Minuten nach deren Einspritzung in den Kreislauf eines stark immunisierten Meerschweinchens. *a* freie Vibrionen; *b* in Mikrophagen eingeschlossene, zum Teil in Kügelchen umgewandelte Vibrionen; *c* rote Blutkörperchen. (Nach einem Präparate von H. Levaditi.)

oder gar vollständig beseitigt, so wird man eine überraschend rapide und zahlreiche Aufnahme der Vibrionen durch Phagocyten wahrnehmen*). Dabei ist besonders bemerkenswert, daß eine große Anzahl intracellulärer Vibrionen, welche von Mikrophagen aufgefressen wurden, sich in Körnchen verwandelt haben. Man bezeichnet bisweilen diese Erscheinung als Pfeiffersches Phänomen im Innern von Phagocyten, wogegen indessen einzuwenden ist, daß das Wesentliche an diesem Phänomen gerade seine extracelluläre Lage ist. Jedenfalls

*) Diese mehrmals sehr genau festgestellte Tatsache liefert den besten Beweis für die Unrichtigkeit der Angabe von Briscoe [136], nach welcher die rasche Phagocytose resp. das Ausbleiben der extracellulären Verwandlung in Kügelchen der Choleravibrionen, welche in die Bauchhöhle gut vorbereiteter Meerschweinchen eingespritzt wurden, auf zu geringen Flüssigkeitsgehalt des peritonealen Exsudates zurückgeführt werden muß. Im Blute fehlt es nicht an Plasma und trotzdem bleibt das Pfeiffersche Phänomen aus, während die Phagocytose mit einer außerordentlichen Schnelligkeit erfolgt.

ist es sehr bedeutungsvoll, daß in den Fällen, wo freie im Blutplasma befindliche, und die in Makrophagen aufgenommenen Vibrionen ihre normale Gestalt behalten, nur diejenigen sich in Kügelchen verwandeln, welche von Mikrophagen aufgefressen wurden. Auf diesen Umstand habe ich schon mehrmals als auf eins der wichtigsten Argumente für den Ursprung der Mikrocytase aus Mikrophagen hingewiesen.

Es ist selbstverständlich, daß, wenn man gegenwärtig die Frage über die Lage und den Ursprung der Cytasen wissenschaftlich untersuchen will, es vor allen Dingen notwendig ist, die Experimente über das Schicksal der in das Blut immunisierter Tiere eingespritzten Mikrobien zu wiederholen. Das sollte auch Ascher tun, wenn er sich eine richtige Vorstellung von „Leukocyten als Komplementbildner bei der Cholerainfektion" machen wollte. Nun aber konnte er die Versuche von Levaditi an immunisierten Meerschweinchen nicht nachmachen, weil man das Einspritzen in die Vena jugularis ausführen mußte. Diese Technik ist aber weder schwer, noch stark eingreifend, zumal wenn man bedenkt, daß die Tiere kurze Zeit nach der Einspritzung in die Blutbahn getötet werden müssen. Da aber diese Versuche, welche eine der Hauptbasis für die Lehre vom Nichtvorhandensein freier Mikrocytase im Blutplasma bilden, nicht wiederholt wurden, so ist es klar, daß eine Kritik, welche solche Argumente nicht berücksichtigt, nicht angenommen werden kann.

Ascher hat seine Aufmerksamkeit anderen Tatsachen gewidmet, welche ebenfalls für die Zugehörigkeit der Mikrocytase zu Mikrophagen angeführt worden waren. Wenn, habe ich früher gesagt, die gegen Choleravibrionen erworbene Immunität auf den freien, in Körperflüssigkeiten gelösten Substanzen, nicht aber auf Phagocytose beruht, so muß die Einführung dieser Mikrobien in die vordere Augenkammer entweder ein Zuströmen wirksamer Stoffe in dieselbe hervorrufen oder, sollte dies nicht der Fall sein, von einer starken Infektion gefolgt werden. Die auf diese Frage gerichteten Untersuchungen ergaben als Resultat, daß bei immunisierten Meerschweinchen in der vorderen Augenkammer kein Pfeiffersches Phänomen sich bildet, was aber die Immunität durchaus nicht aufhebt, da sehr viele Leukocyten nach den Choleravibrionen in die vordere Augenkammer eindringen und dieselbe dort auffangen und schließlich definitiv abtöten. Diese Tatsache ist sehr oft mit demselben Erfolge wiederholt worden und wurde auch von Bordet durch die direkte Ermittelung bestätigt, da er durch seine Methode leicht bestimmen konnte, daß im Augenwasser immunisierter Tiere weder Cytase, noch Fixatoren vorhanden sind. Nun hat Ascher auch diese Versuchsreihen nicht wiederholt, weil a priori es nicht zu erwarten war, daß in der vorderen Augenkammer große Mengen von Cytasen „bei eigenartigen Zirkulationsverhältnissen" vorkommen könnten und weil „nur geringe Reizungen an dieser Stelle genügen, um eine große Menge Leukocyten anzulocken". Gerade die Tatsache, daß der Organismus sich so leicht mit diesen Phagocyten gegen Mikrobien schützt (da ja die Immunität nach der Infektion der vorderen Augenkammer bestehen bleibt), spricht für die wichtige Rolle dieser Zellen. Uebrigens ist die Meinung Aschers, daß Zirkulationsverhältnisse den Zufluß der Cytasen in die vordere Augenkammer unmöglich machen, nicht richtig. Levaditi[137] hat noch vor der Publikation Aschers durch direkte

Versuche nachgewiesen, daß das Augenwasser leicht Cytase enthalten kann, wenn man einige Zeit vorher dieselbe in den Kreislauf desselben Tieres eingeführt hat. Wenn es somit in der vorderen Kammer keine Cytase gibt, so rührt es nur von deren Nichtvorhandensein im Blutplasma her. Die sehr untergeordneten Erscheinungen der Bakteriolyse im Augenwasser außerhalb des Organismus lassen sich auf gleiche Stufe stellen, wie die analogen Vorgänge in der physiologischen Kochsalzlösung und vielen anderen Flüssigkeiten und sind lange nicht mit den Erscheinungen im Blutserum zu vergleichen.

Die Einführung der Choleravibrionen in die Oedemflüssigkeit oder in das subkutane Gewebe von immunisierten Tieren wird ebenfalls nicht vom PFEIFFERschen Phänomen gefolgt, wie ich es bereits seit Jahren nachgewiesen habe. Diese Tatsache ist oftmals bestätigt worden. ASCHER hat die betreffenden Versuche wiederholt und ist zu dem Schlusse gekommen, daß „im Oedem ganz geringfügige" Mengen von Cytasen (Komplementen) vorhanden sind, was er ebenfalls den Zirkulationsverhältnissen zuschreibt, obwohl es von LEVADITI direkt nachgewiesen wurde, daß ins Blut eingespritzte Cytase in die Transsudate übergeht. Auf der andern Seite hat CANTACUZÈNE[118] nachgewiesen, daß es genügt, unter die Haut eine Anzahl beschädigter Leukocyten einzuführen, um das PFEIFFERsche Phänomen sehr ausgesprochen zu erhalten. Was dagegen die Verhältnisse im Unterhautgewebe immunisierter Meerschweinchen, denen man keine fertigen Leukocyten vorher eingeführt hat, betrifft, so ist es bereits von vielen Forschern festgestellt worden, daß dabei keine extracelluläre Abtötung, sondern eine sehr starke Phagocytose zustande kommt. ASCHER weicht von mir auch in dieser Beziehung ab, indessen gesteht er selbst, daß unter der Haut die Verwandlung in Körnchen langsam und in geringem Maße erfolgt, da er nach 5 und sogar nach ca. 24 Stunden noch nicht transformierte Vibrionen auffand. Wenn es ihm nicht gelingen wollte, eine ergiebige Phagocytose zu beobachten, so ist dieses negative Resultat nicht im geringsten imstande, die von mehreren Forschern wahrgenommene starke Aufnahme der Vibrionen durch Leukocyten zu widerlegen. Diese Tatsache ist zu sicher festgestellt worden, um durch einige mißglückte Versuche in Zweifel gesetzt zu werden.

Die für Choleravibrionen konstatierten Ergebnisse sind von mir und einigen meiner Schüler auch auf andere Vibrionen ausgedehnt worden. So konnte ich[138] nachweisen, daß der Untergang der Vibrionen von GAMALEIA (Vibrio Metchnikovii) im Organismus immunisierter Meerschweinchen das Werk von Phagocyten ist. SANARELLI[139] hat darüber weitere Feststellungen gemacht. Aehnliche Resultate sind von MESNIL[140] bei Untersuchung der Vibrionen von Massaua erhalten worden. Wenn die Vibrionen nicht extracellulär durch bei Phagolyse ausgeschiedene Mikrocytase abgetötet werden, so gehen sie im Innern der Phagocyten zugrunde. Der letztere Fall bildet die allgemeine Regel, welche auch für die vordere Augenkammer und für Transsudate ihre Gültigkeit bewahrt.

Nun wissen wir seit den Untersuchungen von BORDET, daß Vibrionen bei immunisierten Tieren durch Cytase abgetötet werden, welche indessen der Hilfe von einer anderen Substanz bedürfen, die wir als Fixator bezeichnet haben. Bei gegen Cholera geschützten Tieren handelt es sich um einen Cholerafixator. Es ist eine lösliche Substanz, welche sich nicht nur innerhalb der Zellen, sondern auch in den Körpersäften befindet. Sie kann in der Oedemflüssigkeit, im Plasma der Exsudate und des Blutes leicht nachgewiesen werden, so daß es keinem Zweifel unterworfen werden kann, daß sie einen Teil der Körpersäfte bildet. Der Cholerafixator, wie die Fixatoren überhaupt, ist hitzebeständiger als die Cytasen und unterscheidet sich in mancher anderen Beziehung von den letzteren.

Der Cholerafixator hat eine große Affinität zu Vibrionen, mit welchen er sich bindet, und obwohl er eine große Rolle in der Verteidigung des Organismus spielt, so ist er doch nicht imstande, Choleravibrionen zu beschädigen. Es ist genügend bekannt, daß mit dem spezifischen Fixator durchtränkte Vibrionen leben und sich vervielfältigen können. Sie sind auch imstande, normalen Tieren tödliche Krankheit zu geben. Da der Cholerafixator aber eine notwendige Bedingung für die Wirkung der Mikrocytase darstellt, so muß man ihm eine große Bedeutung vindizieren. Man könnte die Wirkung verschiedener Faktoren bei der Choleraimmunität in der Weise formulieren, daß man den ersten Impuls in der Durchtränkung des Fixators erblickte, welchem dann in zweiter

Linie die Verwandlung in Körnchen, resp. das Abtöten der Vibrionen durch Mikrocytase außerhalb oder innerhalb der Phagocyten folgte. So ist die Sache auch wirklich oft aufgefaßt worden.

Nun ist es möglich sich durch direkte Ermittelungen von der relativen Bedeutung des in Körpersäften kreisenden Fixators und der an Phagocytose gebundenen Mikrocytase zu überzeugen. Es ist oft beobachtet worden, daß stark gegen Choleravibrionen immunisierte Tiere doch an Choleraperitonitis sterben können und dies zu einer Zeit, als ihre Körpersäfte eine reichliche Menge spezifischen Fixators enthalten. Diese Tatsache ist auch von Pfeiffer[141] wahrgenommen worden, welcher sah, daß einige seiner hochimmunisierten Meerschweinchen nach einer Einverleibung von Choleravibrionen starben, wobei in ihren Säften diese Bakterien zahlreich waren, trotzdem daß das Blutserum derselben Tiere eine starke schützende Wirkung bei normalen Meerschweinchen offenbarte. Daraus ist zu schließen, daß das reichliche Vorhandensein vom Fixator noch nicht genügt, um Tieren Immunität zu sichern.

Auf der anderen Seite wissen wir zur Genüge, daß das Fehlen des spezifischen Fixators in Körpersäften die Phagocytose nicht hindert und die Immunität nicht aufhebt. Wir haben schon oben hervorgehoben, daß das Augenwasser immunisierter Tiere gewöhnlich frei vom Fixator ist. Diese Tatsache ist von Bordet[142] durch direkte Versuche bezüglich der gegen Choleravibrionen immunisierten Meerschweinchen ermittelt worden. Nun ist dieses Fehlen nicht imstande. eine reichliche Einwanderung der Leukocyten in die mit Choleravibrionen infizierte vordere Augenhöhle, resp. das Auffressen und die intraphagocytäre Abtötung dieser Mikrobien zu verhindern.

Drehen wir den Versuch in der Weise um, daß wir die Phagocytose auf einige Zeit unmöglich machen oder nur verlangsamen, ohne die Wirkung des in Körpersäften kreisenden Fixators zu berühren, so wird die Immunität aufgehoben und gut immunisierte Tiere sterben an Choleraperitonitis. Diese Tatsache ist durch genaue in meinem Laboratorium von Cantacuzène[120] ausgeführte Exprimente festgestellt. Er hat zunächst nachgewiesen, daß die Einspritzung der Opiumtinktur eine Narkose der Meerschweinchen und zugleich die Unbeweglichkeit der Leukocyten zur Folge hat. Darauf konstatierte er, daß gut immunisierte Meerschweinchen, welche dem Einflusse des Opiums ausgesetzt und mit Choleravibrionen infiziert wurden, an allgemeiner Infektion, resp. Intoxikation zugrunde gingen. Bei diesen narkotisierten Tieren fand sowohl die Erweiterung der Blutgefäße, als eine ausgesprochene Hyperleukocytose des Blutes statt. Aber die Diapedese weißer Blutkörperchen erfolgte nicht während einiger Stunden nach der Darreichung der Opiumtinktur. Die kurze Periode der Untätigkeit der Phagocytose bei Meerschweinchen, deren Säfte reichliche Mengen Fixators enthielten, genügte schon, damit die Vibrionen sich vermehrten und Oberhand gewannen. Aus ihrem Schlafe aufgeweckt, fangen nun die Phagocyten an, die sehr zahlreichen Choleravibrionen aufzufressen; sie können auch das Leben der Tiere etwas verlängern, sind aber nicht mehr imstande, den Tod zu verhindern.

Es muß somit angenommen werden, daß in den Fällen, wo stark immunisierte Tiere, trotz des reichlichen Vorhandenseins vom Fixator, doch zugrunde gehen, dies geschieht durch das Ausbleiben oder die Unvollständigkeit der Phagocytose. Der letzteren muß folglich eine ganz hervorragende Bedeutung bei der erworbenen Immunität gegenüber Choleravibrionen zugeschrieben werden.

Da aber die Rolle des Cholerafixators, obwohl er allein nicht genügt um die Immunität zu sichern, doch eine sehr bedeutende ist, so muß die Frage aufgeworfen werden, in welcher Beziehung dieser Faktor zu zelligen Elementen überhaupt und zu Phagocyten insbesondere steht. Daß der Cholerafixator, wie die Fixation überhaupt, zelligen Ursprungs ist, darüber konnte man natürlich keinen Zweifel haben. Mit dem Studium dieser Fragen beschäftigt, haben Pfeiffer & Marx[143] die wichtige Tatsache entdeckt, daß der Cholerafixator von blutbildenden Organen erzeugt wird. Um dies festzustellen, haben sie Kaninchen durch Hitze abgetötete Cholerakulturen subkutan eingeführt und daraufhin die schützende Wirkung des Blutes, resp. der Extrakte verschiedener Organe genau bestimmt. Da die Leukocytenschichte des Blutes, sowie die aus Peritonealexsudaten entnommenen weißen Blutkörperchen keinen nennenswerten präventiven Einfluß aufwiesen, so glauben Pfeiffer & Marx, daß diese Zellen an der Bildung der präventiven Substanz nicht beteiligt sind. Dagegen konnten sie feststellen, daß der Milzextrakt ihrer Tiere, zur Zeit als das Blutserum noch keine präventive Wirkung besitzt, imstande ist, frische Tiere gegen Choleraperitonitis zu schützen. Aus dieser Tatsache schließen Pfeiffer & Marx, daß

die Milz das Hauptzentrum der Bildung des schützenden Antikörpers darstellt. Um diese Annahme zu prüfen, haben diese Autoren entmilzte Kaninchen mit abgetöteten Cholerakulturen behandelt. Da aber bei denselben das Blutserum eine ebensolche schützende Wirkung wie dasjenige der nicht entmilzten Tiere besaß, so kamen Pfeiffer & Marx zu dem Schluß, daß Lymphganglien und das Knochenmark ebenfalls zur Erzeugung des Choleraantikörpers dienen können. Sie formulieren ihre Ansicht in der Weise, daß sie die Bildung dieser schützenden Substanz den blutbildenden Organen zuschreiben.

Fast zu gleicher Zeit haben Wassermann & Takaki [144] nachgewiesen, daß die präventive Substanz des Blutserums, welche frische Tiere gegen Infektion mit Typhusbacillus schützt, ihre Entstehung dem Knochenmarke, der Milz, den Lymphdrüsen und dem Thymus verdankt. Andere daraufhin untersuchte Organe haben sich dagegen in dieser Beziehung als vollkommen unwirksam bewiesen.

Detre Deutsch [145] hat in meinem Laboratorium diese Versuche wiederholt und konnte leicht bestätigen, daß die Milz das Hauptzentrum der Bildung des Typhusantikörpers repräsentiert. Bei entmilzten Tieren konnte er, ebenso wie Pfeiffer & Marx, schützendes Blutserum erhalten, wobei das Knochenmark die größte Menge des Antikörpers lieferte. Nur in den Fällen, wenn Tiere nicht vor der Einführung der Typhusbacillen, sondern einige (3—5) Tage nachher entmilzt wurden, erwies sich die Quantität der schützenden Substanz als viel geringer.

Diese Vermutung wird durch die Ergebnisse von Wassermann & Citron [146] bekräftigt, welche fanden, daß der schützende Antikörper auch in den Pleura- und Peritonealexsudaten sich bilden kann. Noch bestimmter ist die Produktion dieses Antikörpers durch Leukocyten von Salimbeni [147] nachgewiesen worden. Er fand, daß im immunisierten Organismus diese Zellen eine wahre Quelle solcher Antikörper darstellen, und zwar zur Zeit als die Blutflüssigkeit noch keine Spur davon enthält.

Die Gesamtsumme der Erscheinungen, welche die Ausscheidung des präventiven Antikörpers einleiten, muß derart gedeutet werden, daß Mikrobien bald nach ihrer Einführung in den tierischen Organismus von Phagocyten aufgefressen und daraufhin größtenteils in die Milz, zum Teil aber auch in andere phagocytäre Organe transportiert werden. Bei entmilzten Tieren wandern die mit Mikrobien beladenen Phagocyten in andere phagocytäre Herde (Lymphdrüsen, Knochenmark u. dgl.) ein. Es ist deshalb sehr wahrscheinlich, daß es nicht die ständigen Elemente dieser Organe, sondern die in dieselben eingewanderten Leukocyten (zum größten Teil Mikrophagen) sind, welche die schützenden Substanzen erzeugen.

Es läßt sich leicht nachweisen, daß Fixation wirklich eine Ausscheidung der Phagocyten darstellen. Die beste Stütze für diese Annahme ist durch die Versuche von Pfeiffer & Marx selbst geliefert. Diese Forscher haben festgestellt, daß Milzextrakte ihrer gegen Cholerainfektion geschützten Kaninchen Choleravibrionen zu einer Zeit in Körnchen verwandeln, wo das Blutserum noch nicht imstande ist, das Pfeiffersche Phänomen auszulösen. Da aber diese Kügelchenbildung das beste Zeichen vom Vorhandensein des spezifischen Fixators ist, so ist es unzweifelhaft, daß der letztere in der Milz gebildet wird, und zwar höchst wahrscheinlich aus dorthin eingewanderten Leukocyten.

Eine ganze Reihe genau festgestellter Ergebnisse führt uns zu folgender Auffassung der Rolle der Phagocyten bei der gegen Mikrobien erworbenen Immunität. Diese empfindlichen und mit beweglichem Protoplasma versehenen Elemente wenden sich mit großer Schnelligkeit nach den Orten, wo Mikrobien in den Organismus auf irgendwelchem Wege gelangt sind. Nach deren Auffressen werden sie in den weitaus meisten Fällen intracellulär verdaut, wobei zwei Enzyme tätig werden: die Mikrocytase, das definitiv verdauende Ferment, und die Fixatoren, welche diese Verdauung in irgendwelcher Weise vorbereiten. Von diesen beiden Enzymen zeigt die Mikrocytase insofern konstantere Verhältnisse, als dieselbe viel inniger mit dem Phagocytenleibe verbunden bleibt und auch in ihrer Quantität nur wenig wechselt. Es ist zuerst von Bordet [126] nachgewiesen worden, daß die Menge der Alexine in den Blutseris normaler und gegen Choleravibrionen immunisierter Tiere ungefähr die gleiche ist. Die

Fixatoren zeichnen sich dagegen durch die Leichtigkeit, mit welcher sie die sie bildenden Phagocyten verlassen und in die Körpersäfte übergehen, und auch durch deren sehr starke Produktion bei immunisierten Tieren aus. Während es im Blutserum normaler Tiere nur in einzelnen Fällen gelingt, deutlich auf Mikrobien wirkende Fixatoren zu finden, ist nichts leichter, als in vielen Fällen erworbener Immunität dieselbe im Blutserum geschützter Tiere nachzuweisen.

Es ist nicht schwer zu begreifen, daß die Zellentätigkeit bei erworbener Immunität eine erhöhte ist. Sie offenbart sich in der größeren Reaktionsfähigkeit derjenigen Elemente, welche im Kampfe gegen Mikrobien die Hauptrolle spielen. Bei Infektionskrankheiten sind es nun die Phagocyten, welche bei der erworbenen Immunität, anstatt vor Mikrobien zu fliehen, sich denselben nähern und sie schnell abtöten, indem sie eine große Menge Fixatoren erzeugen, welche den bakterientötenden Cytasen den Weg ebnen.

Die in den vorhergehenden Zeilen zusammengefaßten Resultate sind auf Grund der Betrachtung von zwei extremen Beispielen erworbener Immunität gewonnen worden. Auf der einen Seite haben wir die Immunität gegenüber Milzbrandbacillen, auf der andern diejenige gegenüber Choleravibrionen berücksichtigt. Die erstere zeichnet sich durch Mangel, die zweite dagegen durch Ueberfluß freier Fixatoren aus. Weitaus die meisten anderen Beispiele erworbener Immunität lassen sich ohne Zwang zwischen die beiden Extreme einschieben. Während die Immunität gegenüber einigen Bakterien, wie z. B. gegenüber Streptokokken, Schweinerotlauf- und Pyocyaneusbacillen sich enger an die Milzbrandimmunität anschließt, läßt sich die Immunität gegenüber einigen anderen Mikrobien, wie z. B. gegenüber Typhusbacillus, in eine innigere Beziehung zu derjenigen gegenüber Choleravibrionen stellen. Es ist nicht nötig, hier in die Details dieser Beispiele einzugehen. Nur müssen wir hervorheben, daß das typische Pfeiffersche Phänomen nur bei Cholera- und einigen analogen Vibrionen zu beobachten ist. Selbst in dieser Gruppe gibt es Repräsentanten, welche sich in dieser Beziehung abweichend verhalten. So verwandelt sich der Vibrio Gamaleïa nur wenig oder gar nicht in Kügelchen. Bei Typhus- und Colibacillen ist eine solche Verwandlung ebenfalls unvollständig; bei sämtlichen anderen daraufhin untersuchten Bacillen fehlt sie dagegen mehr oder weniger vollkommen. Die Phagocytose läßt sich dagegen in sämtlichen Fällen feststellen, auch in solchen, wo das Pfeiffersche Phänomen am stärksten ausgesprochen ist. Wenn die Peritonealflüssigkeit eingeimpfter Tiere nur freie Kügelchen aufweist, braucht man nur das Tier zu opfern und die Peritonealwandungen zu untersuchen, um, nach den Ergebnissen von Max Gruber[148] und Cantacuzène[130], sofort eine starke Phagocytose wahrzunehmen.

Es ist einigemal versucht worden, nachzuweisen, daß die Reaktion seitens der Phagocyten nur dann möglich ist, wenn pathogene Mikrobien vorher durch rein humorale Einflüsse in Klümpchen zusammengeballt, agglutiniert oder wenigstens in ihrer Beweglichkeit geschädigt werden. Es ist nicht zu leugnen, daß in den Flüssigkeiten von Tieren, welche eine antibakterielle Immunität erworben haben, in der Regel solche Agglutinine vorkommen. Max Gruber glaubte sogar, daß diese Substanzen nichts anderes sind, als immunisierende Stoffe, oder Fixatoren, deren Einwirkung eine unumgängliche Vorbedingung für

die Tätigkeit der bakteriziden Substanzen (Alexine) darstellt. Wir brauchen hier nicht näher in dieses Thema einzugehen, zumal dasselbe in einem anderen Abschnitte dieses Handbuches ausführlich behandelt wird, und begnügen uns nur mit der Bemerkung, daß die Rolle der Agglutination von Mikrobien in der erworbenen Immunität nur eine ganz untergeordnete ist. Seit beinahe zwanzig Jahren haben wir bereits den Nachweis geliefert[131], daß es Fälle gibt, wo es bei immunisierten Tieren zu keiner Agglutination der bezüglichen Infektionserreger kommt und wo trotzdem die Körpersäfte eine ausgesprochene Präventivwirkung ausüben. Gegenwärtig wird es wohl algemein angenommen, daß Agglutinine und Fixatoren zwei verschiedene Substanzgruppen darstellen, wie es unter anderem von A. Wassermann für Bacillus pyocyaneus festgestellt worden ist.

Es ist möglich, daß unbeweglich gemachte und zu Haufen vereinigte Bakterien leichter von Phagocyten aufgenommen werden, indessen bildet dieser Umstand keine notwendige Vorbedingung für das Auffressen, resp. Verdauen der Mikrobien im Innern der Zellen. Auch muß es betont werden, daß in einigen Fällen, wie z. B. bei gegen Choleravibrio immunisierten Pferden, die Exsudatflüssigkeit nur dann imstande ist, diese Bakterien zu agglutinieren, wenn dieselbe außerhalb des Organismus der Einwirkung des Sauerstoffes ausgesetzt worden war. Diese Tatsache ist mit Sicherheit von Salimbeni[129] festgestellt worden.

Man glaubte ferner, daß bei der erworbenen Immunität die Phagocytose nur durch ein vorhergehendes Unschädlichmachen der Toxine ermöglicht wird. Nach der Entdeckung des antitoxischen Vermögens des Blutserums immunisierter Tiere durch von Behring und Kitasato schien es sehr wahrscheinlich, daß pathogene Bakterien im Tierkörper zuerst ihrer Toxine beraubt werden. Ihrer Hauptwaffe verlustig geworden, verfallen diese Mikrobien ohne Mühe den Angriffen seitens der Phagocyten. Eine ganze Reihe genau festgestellter Tatsachen zeigte indessen bald, daß diese Hypothese unrichtig ist. Die Körpersäfte solcher Tiere, welche gegen Infektion mit Bakterien eine solide Immunität erworben haben, zeichnen sich durch Mangel irgendwelcher antitoxischen Kraft aus, wie ich es für den Coccobacillus der Pneumoenteritis der Schweine nachgewiesen habe[149]. Mit dieser Tatsache steht diese andere in vollkommenem Einklange, daß gegen lebende Bakterien immunisierte Tiere eine hohe Empfindlichkeit für entsprechende Toxine aufweisen. Von Charrin & Gamaleia[150] zuerst festgestellt, wurde dieses an sich paradox klingende Faktum namentlich durch ausführliche und genaue Versuche von R. Pfeiffer an Choleravibrionen bestätigt.

Es muß somit angenommen werden, daß die Immunität, welche gegen lebende Bakterien erworben wurde, durchaus nicht auf einer antitoxischen Kraft der Körperflüssigkeiten beruht.

Die einzige Erscheinung, welche bei dieser Art der Immunität ganz konstant vorkommt, ist die erhöhte Phagocytose, wie es durch eine große Reihe genau festgestellter Tatsachen dokumentiert wurde. Man mag irgendeine Bakterienart nehmen, welcher gegenüber der Organismus immunisiert werden kann; in keinem einzigen Falle wird die Phagocytose ausbleiben. Selbst bei gegenüber tierischen Mikrobien immunisierten Tieren, wie z. B. bei der erworbenen Immunität gegenüber Trypanosmen, wie es aus den genauen Feststellungen

von LAVERAN & MESNIL[98] hervorgeht, werden diese Geißelinfusorien durch Phagocyten aufgefressen.

Es wird nicht mehr bestritten, daß es bei der erworbenen Immunität gegen Mikrobien sich um eine Erhöhung der zellulären Reaktionstätigkeit handelt. Lebende Zellelemente, unter dem Einflusse der Schutzimpfungen, erlangen die Fähigkeit mit großer Energie ihre Funktionen auszuüben. Es wird dann kaum mehr bezweifelt, daß es Phagocyten sind, welche dabei wirksam sind. Die Tatsache, daß sogar die in Körperflüssigkeiten kreisenden Fixatoren ein Ausscheidungsprodukt phagocytärer Organe darstellen, hat für diese Ansicht eine neue Stütze geliefert. Nun wollte man Auskunft darüber haben, ob bei der erworbenen Immunität gegen Mikrobien nicht nur die exkretorische, sondern auch die phagocytäre Rolle lebender Zellen namhaft erhöht wird. DENYS & LECLEF[151] glaubten diese schwierige und delikate Frage durch ihre Untersuchungen an gegen Streptokokken immunisierten Tieren in negativem Sinne entscheiden zu können. Sie beobachteten die Wirksamkeit der Leukocyten solcher Tiere außerhalb des Organismus und sahen dabei, daß sie nur in Gegenwart immunen Serums gierig Streptokokken auffraßen. Sobald sie in normales Blutserum gebracht wurden, hörte die Phagocytose so gut wie gänzlich auf.

Diese ganz genau ermittelten Tatsachen bilden die Basis der Theorie der Opsonine, worüber wir im vorigen Kapitel berichtet haben. NEUFELD hat in mehreren Abhandlungen diese Theorie auf die Erscheinungen bei der erworbenen Immunität angewendet. Die Substanz, welche im Versuche von DENYS und LECLEF nach Art der Opsonine, d. h. phagocytosebefördernd, wirkt, nennt er Bakteriotropin. Das letztere unterscheidet sich von den Opsoninen von WRIGHT namentlich dadurch, daß es bedeutend termostabiler ist und auch mit Leichtigkeit durch das Filter durchgeht. Während Opsonine nicht spezifisch sind, wirken die Bakteriotropine nur auf eine bestimmte Bakterienspecies, so daß es neben Staphylotropinen, Pneumokokkotropinen, Streptokokkotropinen usw. gibt.

Trotz zahlreicher Arbeiten über die Bakteriotropine ist es zurzeit unmöglich, sich definitiv über die Natur dieser Substanzen auszusprechen. Es scheint jedoch, nach Angabe mehrerer Forscher, daß die Tropine aus Fixatoren und Cytasen bestehen und in dieser Beziehung mit Opsoninen übereinstimmen. Während aber die letzteren hauptsächlich aus Cytasen bestehen und nur sehr wenig Fixator enthalten, sind die Bakteriotropine aus sehr viel Fixator und sehr wenig Cytase zusammengesetzt. Dieser — quantitative — Unterschied erklärt den Unterschied zwischen beiden Substanzen in ihrem Verhalten zur Hitze, sowie alle anderen Merkmale, wodurch sie sich voneinander unterscheiden.

Gegenüber allen diesen Untersuchungen in vitro kann man einwenden, daß die Phagocytose unter den künstlichen Bedingungen außerhalb des Organismus so sehr modifiziert wird, daß bindende Schlüsse daraus unmöglich gezogen werden dürften. Viel sicherer sind die Tatsachen, welche man im lebenden Organismus wahrnimmt. Nun gibt es Beispiele genug, wo immunisierte Tiere eine nur schwache oder sogar gar keine schützende Wirkung ihrer Flüssigkeiten aufweisen, wogegen die Phagocytose sehr deutlich erhöht wird.

Um sich in dieser wichtigen Frage genauer zu unterrichten, wird man kaum besser tun, als diejenigen Fälle erworbener Immunität zu berücksichtigen, welche nicht auf Einführung spezifischer Mikrobien, resp. deren Produkte, sondern auf indifferente Flüssigkeiten, wie physiologische Kochsalzlösung oder Bouillon, erfolgen.

KLEIN[153] war es, welcher zuerst darauf hinwies, daß man Meerschweinchen gegen Choleraperitonitis nicht nur mit Choleravibrionen, sondern auch mit beliebigen anderen Mikrobien (Vibrio Finkler und

Prior usw.) schützen kann. ISSAEFF[154] hat darauf, unter PFEIFFERS Leitung, diese Frage in Angriff genommen. Er konnte nicht nur die Angaben von KLEIN bestätigen, sondern ihnen noch andere wichtige Tatsachen beifügen. Eine 24 Stunden vor der Infektion mit Choleravibrionen vorgenommene Tuberkulineinspritzung verleiht Meerschweinchen einen mehrere Tage dauernden Schutz. Eine ähnliche, obwohl etwas schwächere präventive Wirkung wird durch Einspritzungen von Nukleïnlösung (2-proz.), von normalem Menschenserum, Bouillon, Urin und physiologischer Kochsalzlösung erzielt.

Es ist unmöglich anzunehmen, daß diese Flüssigkeiten irgendeinen schädlichen Einfluß auf die Bakterien ausüben könnten. Im Gegenteil, die Bouillon stellt sogar einen sehr guten Nährboden für diese Mikrobien dar. Eine antitoxische Wirkung muß ebenfalls ausgeschlossen werden. Der schützende Effekt der genannten Flüssigkeiten beruht vielmehr auf der Steigerung der Phagocytose. Die präventiven Einspritzungen haben eine sehr starke Leukocyteneinwanderung in die Bauchhöhle zur Folge, wobei gerade die polymorphkernigen Mikrophagen die Hauptrolle spielen. Sobald diese Zellen in Berührung mit eingeführten Bakterien gelangen, werden die letzteren gierig aufgenommen und intracellulär verdaut. ISSAEFF hat festgestellt, daß dabei „die Schnelligkeit des Vibrionenvernichtungsprozesses im Organismus eine außerordentliche ist. Schon gleich nach der Injektion beobachten wir eine stark ausgesprochene Phagocytosis. Die Mikrobienzahl ist eine enorme, die der Leukocyten ebenfalls. Die letzteren sind mit Bacillen überfüllt" (l. c.).

Zweifellos sind diese Beispiele erworbener Immunität ausschließlich das Werk der Phagocyten, wie es übrigens auch allgemein anerkannt wird. Die Resultate ISSAEFFS sind auch mehrmals bestätigt und auf andere Bakterien erweitert worden. So konnte FUNK[155] dieselben Erscheinungen nach der Einführung von Typhusbacillen in die Bauchhöhle mit verschiedenen Flüssigkeiten vorbereiteter Meerschweinchen wahrnehmen. BORDET[156] hat dasselbe bei der Streptokokkeninfektion und ich[59] bei der Einspritzung von Pestbacillen beobachtet.

Ohne die phagocytäre Ursache dieser Art der Widerstandsfähigkeit des Organismus anzuzweifeln, glaubt PFEIFFER, daß es sich in diesen Fällen nicht um echte Immunität, sondern um Erscheinungen der Resistenz handelt. Die Terminologie hat in dieser Angelegenheit indessen keine prinzipielle Bedeutung. Die Wahrheit ist einfach die, daß ein im Grunde empfänglicher Organismus durch eine erhöhte Phagocytentätigkeit vor einer tödlichen Krankheit mit Sicherheit geschützt werden kann.

Unter den Flüssigkeiten, welche einen solchen Einfluß auszuüben imstande sind, spielen normale Sera eine hervorragende Rolle. Jedes normale Serum hat eine mehr oder weniger ausgesprochene Schutzwirkung; nur ist die letztere nicht spezifisch und bedarf stets verhältnismäßig großer Mengen Flüssigkeit (0,5—1 ccm). Spezifische Sera üben dagegen schon eine starke Wirkung aus, wenn sie in viel geringerer Quantität präventiv eingespritzt werden. Dabei kann man ganz ähnliche Erscheinungen im Organismus wahrnehmen. Solche Sera wirken ebenfalls sehr stimulierend auf die Phagocytenreaktion; daneben aber üben sie auch einen unmittelbaren Einfluß auf pathogene Bakterien aus, welche sich mit spezifischen Fixatoren (oder Am-

bozeptoren) beladen und in der großen Mehrzahl der Fälle auch zu Haufen agglutiniert werden. Solche Mikrobien können bisweilen ihre volle Beweglichkeit bewahren und sich auch in normaler Weise vermehren; sie behalten auch ihre ursprüngliche Virulenz. Trotzdem verfallen sie der Freßtätigkeit der Leukocyten, in deren Innerem sie definitiv vernichtet werden. Manche spezifischen Sera sind auch mehr oder weniger bakterizid, wobei die Cytasen diese mikrobientötende Wirkung ausüben. Aber auch in solchen Fällen erfüllen die Phagocyten eine bedeutende Rolle, wie aus Untersuchungen über den Einfluß der Narkose deutlich hervorgeht. Cantacuzène[120] injizierte Meerschweinchen, welche vorher mit einer nicht tödlichen Menge Opiumtinktur behandelt wurden, Choleravibrionen und spezifisches antibakterielles Serum. Unter dem Einflusse des letzteren verwandelten sich die Vibrionen binnen kurzem in Körnchen, wovon viele zugrunde gingen. Die, infolge der narkotischen Wirkung des Opiums, verzögerte Leukocytose genügte aber, um Vibrionen Ueberhand zu verschaffen. Dieselben entzogen sich der Phagocytose, vermehrten sich in der Bauchhöhlenflüssigkeit und verursachten den tödlichen Ausgang bei Meerschweinchen. Aehnliche Resultate wurden von Georgiewsky[157] in bezug auf die Bacillen des blauen Eiters erhalten. Mit Opiumtinktur vorbehandelte Meerschweinchen gingen regelmäßig zugrunde, trotz der Einspritzung spezifischen Serums, welches vollkommen genügte, um normale Tiere derselben Species vor der Pyocyaneusinfektion zu schützen.

Mit diesen Resultaten stimmen die Ergebnisse neuerer Forschungen über das Fehlen humoraler Veränderungen bei der Immunisierung gegen einige Infektionskrankheiten. So fand Citron[158], daß bei der Schutzimpfung der Kaninchen gegen den Bacillus suipesticus die erworbene Immunität eine celluläre ist, d. h., daß der Grund der Widerstandsfähigkeit des Organismus mit dem Verhalten der Blutsera nicht übereinstimmt. Schukewitsch[159] konnte dieses Resultat bestätigen, indem er fand, daß die Immunität der Kaninchen gegen den genannten Bacillus „unabhängig von der Stärke der schützenden Wirkung des Blutserums ist“ (p. 747).

Während die Vertreter der humoralen Theorien der erworbenen Immunität früher annahmen, daß dieselbe auf der Ausbildung der mikrobientötenden Wirksamkeit der Blutsera beruht, hat man später diese Ansicht allmählich verlassen. Man wollte eine Zeitlang der agglutinativen Kraft der Körperflüssigkeiten eine bedeutende Rolle zumessen; dann kam die Reihe auf schützende Antikörper, d. h. auf Fixatoren oder Ambozeptoren, Schließlich mußte man die erworbene Immunität auf die Ausbildung der Bakteriotropine reduzieren, d. h. der Substanzen, welche die Bakterien nur insofern angreifen, als sie sie leichter phagocytabel machen.

So mußte man, nach einer langen Reihe Forschungen, erkennen, daß die Phagocytose nicht nur bei der natürlichen, sondern auch bei der erworbenen Immunität eine bedeutsame Rolle spielt. Bei diesem Sachbestande mußte es ganz paradox klingen, daß die Leukocyten beim Erwerben der Immunität keine Veränderung erleiden sollten, wie es von Denys und seinen Nachfolgern angenommen wurde. Schon die Tatsache, daß bei dieser Immunität die Menge der Fixatoren in sehr vielen Fällen bedeutend steigt, ferner, daß diese Antikörper phagocytären Ursprungs sind, weist darauf hin, daß Leuko-

cyten eine bedeutende funktionelle Aenderung erfahren. PETTERSSON[107] und nach ihm SALIMBENI[147] konnten durch das Einführen in die Bauchhöhle normaler Meerschweinchen von Leukocyten solcher Individuen derselben Species, welche gegen den Vibrio Metschnikowii schutzgeimpft wurden, eine energische Phagocytose hervorrufen.

PETTERSSON hat im Laufe seiner Studien sogar eine neue Methode künstlicher Schutzimpfung durch gewaschene Leukocyten ausgearbeitet.

Die große Bedeutung der Phagocytose erhellt nicht nur aus der näheren Betrachtung der erworbenen Immunität gegenüber Bakterien, sondern ebenfalls aus der genaueren Analyse der künstlichen Widerstandfähigkeit gegen Gifte. Eines der besten in dieser Beziehung bekannten Beispiele liefert uns die gegen Arsentrisulfid durch BESREDKA[159] erzielte Immunität bei Meerschweinchen. Die Einspritzung der orangefarbenen Kristalle dieses schwerlöslichen Salzes in die Bauchhöhle der Meerschweinchen ruft eine starke Leukocytenwanderung hervor. Die Makrophagen des Peritoneums bemächtigen sich des Arsentrisulfids, welches schließlich intracellulär aufgelöst und aus dem Organismus weggeschafft wird. Werden größere Mengen dieses Salzes eingeführt, dann wird die Phagocytose ungenügend und die Tiere gehen unrettbar zugrunde. Um diesen fatalen Ausgang zu verhindern, genügt es, durch Vorbehandlung der Meerschweinchen, die Menge der Makrophagen in der Bauchhöhle zu vergrößern. Unter solchen Bedingungen werden die sonst tödlichen Dosen des Arsentrisulfids leicht vertragen, wobei die Kristalle von Phagocyten aufgenommen und unschädlich gemacht werden. Daß dabei wirklich den Phagocyten die entscheidende Rolle zukommt, erhellt aus der Tatsache, daß eine sonst nicht tödliche Dosis des Arsentrisulfids, wenn die Kristalle vor Phagocyten durch Schilfrohrsäckchen geschützt werden, Meerschweinchen zugrunde richten.

Es gibt auch Tatsachen, welche die entgiftende Rolle der Phagocyten gegenüber Toxinen bakteriellen Ursprungs beweisen. So hat BESREDKA[160] konstatiert, daß abgetötete Typhusbacillen, welche ein wirksames Endotoxin in ihrem Leibe enthalten, durch Leukocyten in ihrer giftigen Wirkung verhindert werden können. BAIL & WEIL[161] haben analoge Resultate mit einem tödlichen Gifte von Staphylokokken erhalten. Wenn man dieses Toxin zugleich mit gewaschenen Leukocyten injiziert, bleiben die Tiere am Leben, während die Kontrolltiere, welche das Gift ohne Leukocyten bekommen, regelmäßig zugrunde gehen.

Die angeführten Beispiele lehren, wie die eigentliche Phagocytose, d. h. das Aufnehmen fester Körper, allmählich in die Erscheinungen der Absorption weicher und flüssiger Stoffe übergeht.

VI. Phagocytose bei der Entzündung und bei Heilung von Infektionskrankheiten.

In jedem Falle sowohl der natürlichen, als der natürlich oder künstlich erworbenen Immunität antwortet der Organismus auf die Einführung pathogener Keime durch eine mehr oder weniger ausgesprochene entzündliche Reaktion. In den meisten Fällen ist die Hyperämie der Gefäße dabei wenig ausgesprochen, die Diapedese

weißer Blutkörperchen tritt dagegen ganz in den Vordergrund. Je stärker der Immunitätsgrad ist, desto weniger treten die allgemeinen Entzündungserscheinungen auf, desto leichter und schneller erfolgt aber der Austritt der Leukocyten.

Aus der Gesamtsumme der bei der Immunität erfolgenden Vorgänge gelangt man leicht zu dem Schlusse, daß die Entzündung der wesentlichste Hebel ist, welcher die Immunität des Organismus verursacht. Es kann auch bei dem jetzigen Stande unserer Kenntnisse keinem Zweifel unterliegen, daß die Entzündung eine vorteilhafte Einrichtung des Organismus repräsentiert. Diese Ansicht hat sich langsam Bahn gebrochen und wird, trotz den gegen dieselbe noch immer laut werdenden Einwänden, wohl von den meisten Pathologen gebilligt.

Aeltere Anschauungen, nach welchen die Entzündung als eine abnorme Störung der Ernährung der Gewebe aufgefaßt wurde, können nicht mehr aufrechterhalten werden. In den letzten Jahren haben mehrere Autoren der Entzündung eine wissenschaftliche Definition zu geben versucht, ohne auf den Grund der Erscheinungen einzugehen. So hat Lubarsch[162] die Entzündung als „die Kombination von Gewebsalterationen mit pathologischen Flüssigkeits- und Zellexsudationen und Zellwucherungen, sofern sie als selbständige Erkrankung in die Erscheinung treten“, bezeichnet. In dieser Definition ist nur das rein äußerliche Bild der Entzündungsvorgänge getroffen, ohne genügende Rücksicht auf deren Ursache und Verlauf. In seiner Uebersicht über die Entwickelung der Entzündungslehre im neunzehnten Jahrhundert hat Ponfick[163] eine andere Definition vorgeschlagen, welche durch dieselben Mängel leidet. Nach ihm ist die Entzündung „eine Störung, welche, hervorgerufen durch eine Erschütterung des Gewebsgleichgewichts, eingeleitet mit einer Alteration der Gefäßwandungen, in einer Ausschwitzung sowohl flüssiger, wie geformter Blutbestandteile besteht, regelmäßig von formativen, häufig zugleich von degenerativen Wandlungen an den Zellen des Grundgewebes begleitet wird“.

Nach der ursprünglichen Bestimmung von Cornil und Ranvier besteht die Entzündung in einer „Reihe von in Geweben oder Organen beobachteten Vorgängen, welche eine Analogie mit solchen aufweisen, die künstlich in denselben Teilen durch Wirkung physikalischer, chemischer oder parasitärer Agentien hervorgerufen werden können“. Dieser, an sich sehr wenig präzisen Definition hat in der letzten Zeit Cornil[164] die Angabe hinzugefügt, „daß die Entzündung einen Reaktionsmodus und eine Abwehr seitens der Zellen in Gegenwart von physikalischen, chemischen oder parasitären Reizen darstelt“.

Es scheint uns viel besser, anstatt sich mit der Bezeichnung äußerlicher Erscheinungen zu begnügen, direkt auf den tieferen Grund der Entzündungsvorgänge einzugehen. Es ist doch sicher festgestellt, daß die Einführung von verschiedenartigsten Reizen in das Blut oder in die Gewebe eine entzündliche Reaktion notwendig zur Folge hat. Dieselbe ist in der weitaus größten Mehrzahl der Fälle von einer ergiebigen Phagocytenmigration begleitet. Wenn der Entzündungsreiz aseptisch ist, indem er aus Elementen des eigenen Organismus besteht, so ist der Hauptvorgang der Reaktion in dem Auffressen der Zellen durch Phagocyten enthalten. Wenn die Entzündung dagegen

durch fremde Eindringlinge, wie Mikrobien oder größere Parasiten, hervorgerufen wird, so wird sie septisch und besteht in der Hauptsache ebenfalls in dem Auffressen der von außen hergekommenen Entzündungserreger.

Die Phagocytentheorie liefert für die gesamte Summe der Entzündungserscheinungen die beste Erklärung und läßt dieselben in sehr einfacher und zusammenfassender Weise begreifen. — Sobald irgend ein Reiz auf bewegliche Phagocyten einwirkt, werden diese Zellen angelockt, um sich an dem betreffenden Orte anzusammeln und den die Reizwirkung ausübenden Körper aufzufressen. Bei niederen Tieren, wie Seesternlarven und dergl., welche weder Blutgefäße noch Nervensystem besitzen, wenden sich die beweglichen Bindegewebszellen in einfachster Weise gegen den eingeführten Fremdkörper, den sie vollständig umwickeln, auffressen und nach Möglichkeit verdauen[87]. In diesem Vorgange können wir mit Recht den ersten Schritt einer Entzündungsreaktion erblicken. Die Phagocytenansammlung um den den Reiz auslösenden Körper bildet somit den Kern der ganzen Entzündungsfrage. Bei höher organisierten Tieren, namentlich bei Wirbeltieren, deren Blutgefäße ein geschlossenes System bilden, ist die entzündliche Reaktion schon viel komplizierter. Während bei Seesternlarven die beweglichen Phagocyten ihre Funktion ohne weiteres ausführen können, muß ihnen bei Wirbeltieren mit einer vom Nervensystem zu regulierenden Gefäßerweiterung geholfen werden. Dabei muß der Entzündungsreiz nicht nur auf die Empfindlichkeit der Leukocyten, sondern auch auf diejenige der Nervenelemente und der Gefäßendothelien einwirken. Unter solchen Verhältnissen kompliziert sich die Reaktion des getroffenen Organismus in der Weise, daß Leukocyten durch einen aktiven Migrationsvorgang das Gefäßlumen verlassen und daß flüssige Blutbestandteile ebenfalls an den Ort der Entzündungsursache befördert werden.

In weitaus der größten Mehrzahl der Fälle ist die Entzündung eine exsudative in dem Sinne, daß es zur Diapedese einer größeren oder geringeren Menge beweglicher Zellen kommt. Nicht nur bei der eitrigen, katarrhalischen und fibrinösen Entzündung enthalten die Exsudate eine Menge Leukocyten, sondern sogar bei der serösen Entzündung ist fast immer die Menge ausgewanderter Phagocyten eine beträchtliche. Fälle, wo entzündliche Transsudate nur wenig oder gar keine Leukozyten enthalten, sind als Ausnahmen zu betrachten. Sie kommen vor entweder wenn die Entzündungsursache eine sehr unbedeutende ist, oder im entgegengesetzten Extrem, wenn der Reiz ganz außerordentlich heftig ist, wie bei akut septischen Prozessen. Solche Ausnahmen hat man benutzt, um die Phagocytentheorie der Entzündung zu widerlegen. Man hat aber dabei nicht berücksichtigt, daß selbst in diesen Fällen es sich um eine Reaktion seitens der Gefäßendothelzellen, welche in die große Kategorie der Phagocyten gehören, handelt. Wenn es sich bei der Entzündung um zellenlose Exsudate handelt, wird dies entweder durch die abwesende Empfindlichkeit der Leukocyten oder durch die negative Sensibilität dieser Zellen verursacht. Solche Fälle sind aber keineswegs imstande, die auf dem vergleichend-pathologischen Wege erlangte Schlußfolgerung zu widerlegen, daß es sich bei der typischen Entzündung wirklich um eine gegenüber der Entzündungsursache ausgeübte Phagocytenreaktion handelt.

Die eigentliche Entzündung ist somit ein Vorgang, mittelst dessen der Organismus sich der Entzündungsursache entledigt, wobei die Phagocytose die Hauptrolle spielt. Bei günstigem Ausfalle kommen dazu noch Reparationsvorgänge, welche oft mit der Entzündung selbst verwechselt werden, obwohl sie eine besondere Gruppe von Erscheinungen darstellen.

Die pathologischen Histologen haben sich viel mit der Frage beschäftigt, ob die in die Exsudate gelangenden Leukocyten imstande seien, sich in fixe Gewebselemente zu verwandeln. Bald nach dem definitiven Nachweise der Leukocytenauswanderung durch Cohnheim glaubte man fast allgemein, daß diese Zellen sich schließlich zum Bindegewebe gestalten. Später erfolgte eine starke Reaktion gegenüber dieser Anschauung und es wurde proklamiert, daß Leukocyten unter keinen Umständen zu fixen Elementen werden können. Namentlich haben die Pathologen auf dem Berliner internationalen medizinischen Kongresse im Jahre 1890 fast einstimmig behauptet, daß ein solcher Vorgang in der Wirklichkeit niemals stattfindet. Eine Zeitlang wurde die Meinung, daß Leukocyten sich in Bindegewebszellen verwandeln können, nur durch J. Arnold[165] und mich[87] vertreten.

Die Wirkung des Berliner Entscheides konnte aber nicht definitiv bleiben. In der letzten Zeit häufen sich immer mehr Stimmen dafür, daß gewisse Elemente der entzündlichen Exsudate, welche in keiner Beziehung von mononukleären Leukocyten unterschieden werden können, doch an der Bindegewebebildung teilnehmen. So hat sich in dieser Richtung F. Marchand[166] in seiner bekannten Monographie des Prozesses der Wundheilung ausgesprochen. Seine Meinung ist durch eine unter der Leitung von Ziegler ausgeführte Arbeit von Maximow[167] unterstützt worden. Unter dem Namen der Polyblasten versteht dieser Autor mononukleäre Phagocyten, welche aus dem Blute in Exsudate einwandern, d. h. echte Leukocyten. „Nach der Einfügung ins Narbengewebe kann sich ein Teil von ihnen so verändern, daß sie den Fibroblasten vollkommen ähnlich werden und von denselben nicht mehr unterschieden werden können“ (S. 248). „Die Polyblasten“ — führt Maximow weiter aus — „können zu fixen bleibenden Zellen ... in dem Falle werden, wenn sie in dem jungen Gewebe selbst eingeschlossen, von den Fibroblasten umgeben bleiben ...“ (S. 249). Mit anderen Worten, es können gewisse emigrierte Leukocyten zu fixen Bindegewebszellen werden, wie wir es an Froschlarven seit vielen Jahren festgestellt haben. Daß Mikrophagen, d. h. polynukleäre Leukocyten, sich dagegen nie zu fixen Elementen gestalten, ist wohl einstimmig und definitiv festgestellt worden.

Es gibt Entzündungen, welche nicht durch Mikrobien, sondern ausschließlich durch gelöste Substanzen hervorgerufen werden. In solchen Fällen ist die eigentliche Phagocytose gar nicht vorhanden. Aber die ganze Erscheinung ist trotzdem sehr analog derjenigen, welche nach dem Eindringen der Mikrobien erfolgt. Nur reagieren dabei die Phagocyten nicht auf feste Körper, sondern bemächtigen sich der Flüssigkeiten. Im Grunde genommen ist der Entzündungsvorgang in beiden Fällen derselbe.

Man mag wie man will über die Entzündung überhaupt urteilen, nie wird man imstande sein zu widerlegen, daß bei der natürlichen und erworbenen Immunität die entzündliche Reaktion stets eine exsu-

dative ist. Es begeben sich dabei auf den Ort, auf welchen die Mikrobien gelangten, zahlreiche Leukocyten, um ihre phagocytäre Rolle auszuüben. Man erblickt oft in diesem Vorgange eine teleologische Einrichtung und glaubt, daß eine solche der Natur der Sache widerspricht. Nun aber ist die Zweckmäßigkeit der entzündlichen Reaktion ganz in derselben Weise aufzufassen, wie diejenige eines beliebigen Organs. Die Phagocyten verlassen die Gefäßwandung und sammeln sich um den Entzündungserreger zum Zwecke der Zerstörung desselben in analoger Weise wie die Verdauungsdrüsen ihre Säfte sezernieren zum Zwecke, die Nahrungsstoffe zu verdauen. In beiden Fällen haben sich die zweckmäßigen Einrichtungen durch einen Evolutionsvorgang ausgebildet und dauerhaft erhalten, weil sie für den Organismus in dessen Kampfe ums Dasein sich als nützlich erwiesen. Diese Erklärung der Zweckmäßigkeit ist eine durchaus mechanische und darf keineswegs in teleologischem Sinne aufgefaßt werden.

Als eine nützliche Einrichtung der tierischen Organisation spielt die Entzündung nicht nur eine große Rolle bei der Immunität, sondern auch bei der Heilung von Krankheiten. Während aber im ersten Falle die Diapedese mit einer solchen Schnelligkeit und Leichtigkeit erfolgt, daß die übrigen Entzündungssymptome ganz in den Hintergrund zurücktreten, nehmen die Erscheinungen bei der Heilung eine ganz andere Gestalt an. Die Auswanderung der Leukocyten wird dabei mehr oder weniger verzögert, wogegen andere Entzündungsmerkmale, wie Hitze, Hyperämie und die Ausscheidung flüssiger Teile, in den Vordergrund treten. Es ist allgemeine Regel, daß zu Beginn der Infektionskrankheiten die entzündlichen Exsudate weniger zahlreich als in späteren Stadien sind. Diese Verzögerung der Reaktion seitens der Phagocyten hat zur Folge, daß die Krankheitserreger sich ungehindert vermehren und ihre pathogene Wirkung in starker Weise ausüben. Während die Vorgänge bei der Immunität, obwohl von Entzündung begleitet, kaum als eine krankhafte Störung aufgefaßt werden können, gestalten sie sich in den Fällen, wo eingedrungene Mikrobien nicht sofort aufgefressen werden können, zu einer wahren Krankheit. Selbst in Fällen, wo die normalen Eigenschaften der Organe auch ohne Vermittelung der Mikrobien in erheblicher Weise gestört werden, ist die Erkrankung mehr oder weniger ausgesprochen. So bei den Traumen. Wunden, welche auf natürliche Weise heilen, rufen eine Entzündung verschiedenen Grades hervor. Zu gleicher Zeit, als die Wundränder durch Fibrin verklebt werden, erweitern sich die benachbarten Gefäße, wobei die Leukocyten die bekannte Randstellung annehmen. Die Anzahl der Mikrophagen wird immer größer und größer, und eine bedeutende Menge derselben verläßt die Gefäßwand, um sich in der Wunde anzusammeln. Makrophagen kommen bald auch dazu, und die Phagocytose stellt sich in hohem Grade ein. Es werden nicht nur Gewebetrümmer von Phagocyten aufgefressen, sondern auch die fast stets in die Wunde gelangenden Mikrobien.

Man glaubte früher, daß primäre Wundheilung nur dann erfolgen kann, wenn die Wunde ganz aseptisch geblieben ist. Indessen ist es später nachgewiesen worden, daß fast stets Bakterien in die Wunden

gelangen und daß trotzdem die Heilung durch **prima intentio** möglich ist. Dieses Resultat muß als Folge der Leistung von Phagocyten betrachtet werden, welche — namentlich die so zahlreichen Mikrophagen — die Mikrobien und deren Sporen auffressen und in ihrer pathogenen Wirkung verhindern. So sehen wir, daß nicht nur Hautwunden, welche wenig Bakterien enthalten, sondern auch die Wunden der Mundhöhle und der Aftergegend, welche eine reiche Mikrobienflora aufweisen, mit Leichtigkeit primär heilen können. Es ist sogar sehr wahrscheinlich, daß viele von diesen Mikrobien durch ihre Ausscheidungen eine positiv chemotaktische Wirkung auf Leukocyten ausüben und eine Menge dieser Freßzellen anlocken[168]. Dadurch kann auch erklärt werden, daß Wunden, welche von Hunden mit stark bakterienhaltigem Speichel beleckt werden, rasch und glatt heilen.

Es gibt Leute, welche ihre Wunden mit Kot behandeln, wobei die Heilung in ausgezeichneter Weise, trotz der enormen Menge Bakterien, erfolgt.

Wenn dagegen vonseiten der stets in den Wunden vorhandenen Phagocyten der Kampf gegen die Mikrobien ungenügend geführt wird, dann kommt es zur Wundinfektion und die Heilung kann nur auf sekundärem Wege erzielt werden. Die Bakterien vermehren sich dabei in hinreichender Menge, um ihre toxischen Produkte auszuscheiden. Die lokale Entzündung wird erheblich verstärkt; es kommt auch zu fieberhafter Reaktion und zu verschiedenen Symptomen einer allgemeinen Erkrankung des Organismus. Wenn der letztere heilt, dann kann man sicher sein, daß Phagocyten dabei eine hervorragende Rolle gespielt haben.

Bekanntlich nehmen unter den Wundinfektionsorganismen Staphylokokken und Streptokokken die erste Stelle ein. Diese beiden Bakteriengattungen sind sehr oft innerhalb der Leukocyten beobachtet worden. Im Wund- oder Abszeßeiter sind viele weiße Blutkörperchen oft mit diesen Mikrobien vollgepfropft. Im allgemeinen läßt sich die Regel aufstellen, daß, je stärker der erkrankte Organismus gegenüber den Bakterien reagiert, desto ausgesprochener deren phagocytäre Aufnahme ist.

Ribbert[169] hat in einer speziellen Monographie die Heilungsvorgänge nach der Infektion mit Staphylokokken genau beschrieben. Er vindiziert dabei den Phagocyten eine weittragende Bedeutung. Es ist ihm nicht zweifelhaft, daß die Zellen lebende Mikroorganismen aufnehmen und dieselben in ihrem Innern zugrunde richten. Ribbert ist aber der Meinung, „daß eine Umhüllung der Bakterien durch zahlreiche Zellen auch ohne Phagocytose die Mikrobien schädigen kann“ (S. 93), worin man eigentlich nur eine Modifikation der gewöhnlichen intracellulären Aufnahme der Bakterien erblicken muß. Es ist nämlich oftmals festgestellt worden, daß bei größeren Fremdkörpern die Phagocyten eine ganze umgebende Schicht darstellen, wobei sie sich zu Riesenzellen zusammenschließen können oder auch mehr isoliert bleiben. Im Grunde genommen ist aber der Vorgang stets derselbe.

Am Schlusse seiner Untersuchungen nimmt Ribbert an, daß „die Heilung unter Einwirkung der zelligen Elemente, und zwar durch allgemeine Phagocytose, oder besonders deutlich durch die lokalen Entzündungsprozesse, bei denen die Phagocytose wiederum,

ferner aber auch die Anhäufung der Zellen mit ihren verschiedenen Einflüssen eine Rolle spielt“ (S. 99).

Für die Heilung bei Streptokokkenkrankheiten gilt dieselbe Regel. Schon FEHLEISEN[170] hat eine Reihe Tatsachen zusammengestellt, welche auf einen ausgesprochenen Antagonismus zwischen den Streptokokken und den Leukocyten hinweisen. Bei Untersuchung von Hautschnitten bei Erysipel fand er, daß an Stellen, wo keine Entzündung sich ausgebildet hat, sich freie Streptokokken vorfinden. Eine zweite Zone, die dem makroskopisch wahrnehmbaren Rande der Rötung entspricht, „ist charakterisiert durch den Beginn einer entzündlichen Reaktion des Gewebes, in der Art, daß zwischen den Coccusvegetationen und ihrer nächsten Umgebung zahlreiche Wanderzellen auftreten, welche die Kokken zum Teil in sich aufnehmen, dieselben mehr und mehr verdrängen. In der dritten Zone sind die Kokken vollständig verschwunden; man findet nur eine starke kleinzellige Infiltration, die entzündliche Reaktion hat ihren Höhepunkt erreicht“ (S. 395).

Fig. 4. Streptokokken und abgetötete Leukocyten aus einer gangränösen Partie der erysipelatösen Haut.

Meine eigenen Untersuchungen[171] haben diese Angaben FEHLEISENS vollauf bestätigt. Bei der Heilung des Erysipels spielen die eingewanderten Phagocyten eine ganz hervorragende Rolle. Während im Beginne der Krankheit die Streptokokken fast ausschließlich freiliegen, werden sie in weiteren Stadien von Leukocyten aufgenommen und in deren Innerem zum Schwunde gebracht. Bei näherer Untersuchung von durch die erysipelatösen Gewebe gemachten Schnitten fällt es auf, daß auf den gangränösen Abschnitten nur wenig Leukocyten vorhanden sind, welche dabei deutliche Absterbungserscheinungen aufweisen. Freie Streptokokken, zum Teil in Ketten gruppiert, liegen in großer Anzahl (Fig. 4). In denjenigen Teilen der Haut, wo das Erysipel zur Ausheilung kommt, ist dagegen die Menge freier Kokken sehr gering, während diejenige der in den Phagocyten eingeschlossenen sehr bedeutend ist. Es ist auffallend, daß unter diesen Zellen große einkernige Makrophagen eine ganz hervorragende Rolle spielen (Fig. 5).

Die Untersuchungen der durch Streptokokken bedingten Krankheiten sowohl wie die Versuche zur Gewinnung von Antistreptokokkensera haben gezeigt, daß es nicht leicht gelingt, präventive Substanzen in den Körperflüssigkeiten nachzuweisen. Wie gerade die Sachen beim Erysipel liegen, ist noch nicht zur Genüge bekannt. Es wäre sehr interessant, die humoralen Eigenschaften des Blutes der vom Erysipel geheilten Individuen zu erforschen, zumal die Gelegenheit dazu nicht gerade selten ist.

Daß die reichliche Phagocytose bei der Heilung des Erysipels keineswegs eine Ausnahmeerscheinung darbietet, kann schon jetzt be-

hauptet werden. Bei vielen Infektionskrankheiten bildet das intracelluläre Vorkommen der Bakterien ein günstiges Symptom. So bemerkt man während der Heilung der Pneumonien eine viel stärkere Phagocytose bei Untersuchung der Sputa, als zu Beginn der Erkrankung. Vor kurzem hatte ich Gelegenheit, einen Fall von Peritonitis zu untersuchen, welche durch Perforation des Wurmfortsatzes verursacht wurde. Zu Anfang lagen die zahlreichen Bakterien ausschließlich außerhalb der Phagocyten. Mit der Zeit aber, als die Anzahl der Leukocyten im Bauchhöhlenexsudate größer wurde, gestaltete sich die Phagocytose viel reichhaltiger (Fig. 6). Die Bakterien wurden schließlich alle aufgefressen (Fig. 7) und intracellülär zerstört, womit zugleich die Peritonitis in Heilung überging.



Fig. 5. Makrophagen aus einem geheilten Abschnitte der erysipelatösen Haut.



Fig. 6. In Makrophagen eingeschlossene Bakterien zu Anfang des Heilungsprozesses der menschlichen Peritonitis.

Aber nicht nur bei der Heilung von lokalen Erkrankungen, wobei die entzündliche Reaktion eine starke Leukocytenansammlung und darauffolgende Phagocytose hervorruft, sondern auch bei der Heilung von septischen Infektionen ist die Rolle der Phagocyten eine sehr große. Als Beispiel kann ich das Rückfallfieber anführen. Diese merkwürdige Krankheit endigt in der weitaus größten Mehrzahl der Fälle mit spontaner Genesung, wobei die Spirillen in sehr kurzer Zeit aus dem Blute verschwinden. Da man beim Menschen dabei keine Phagocytose wahrnehmen konnte, so galt eine Zeitlang das Rückfallfieber als ein starker Einwand gegen die Phagocytentheorie. Erst die Untersuchung der Heilungsvorgänge bei Affen hat den Widerspruch aufzulösen vermocht. Die Affen und Nager sind be-

kanntermaßen die einzigen Tiere, welche für Recurrensspirillen empfindlich sind. Nur ändert sich bei ihnen das Krankheitsbild insofern, als es oft nicht zu Rückfällen kommt. Der erste Fieberanfall, welcher einige Tage dauert, führt dann zur Krise, welche von einer definitiven Genesung gefolgt wird. Die Spirillen verschwinden mit außerordentlicher Schnelligkeit während der Temperaturerhöhung, welche der eigentlichen Fieberkrisis unmittelbar vorausgeht. Nachdem wir [172] eine Reihe Affen während verschiedener Stadien der Krankheit und der Genesung töteten, konnten wir ohne Mühe den Nachweis bringen, daß das Verschwinden der Spirillen das Werk von polymorphkernigen Phagocyten oder Mikrophagen ist.

Während des eigentlichen Anfalles befindet sich bei weitem die größte Mehrzahl der Spirillen frei in der Blutflüssigkeit; nur einige wenige werden von Mikrophagen des Blutes aufgenommen. Eine etwas stärkere Phagocytose seitens derselben Kategorie von Leukocyten wird in der Milz vorgefunden. Erst in dem der Temperaturkrise vorausgehenden Studium wird die Spirillenaufnahme durch Phagocyten sehr bedeutend. Ein in dieser Periode getöteter Affe, welcher keine Spirillen mehr im Blute beherbergte, zeigte eine große Menge spirillenhaltiger Mikrophagen in der Milz. Die Spirillen zeigten zum Teil ihr normales Aussehen, zum Teil dokumentierten sie aber bereits deutliche Zeichen von Degeneration. Da die Milzemulsion dieses Affen imstande war, bei einem anderen Affen eine typische Krankheit zu erzeugen, so muß man annehmen, daß die intracellulären Spirillen zum Teil noch lebend und vollkommen virulent waren. In späteren Stadien des natürlichen Heilungsprozesses konnte ich noch eine Anzahl Spirillen im Inneren der Milzmikrophagen auffinden; die meisten waren aber schon sehr stark angegriffen. Es unterliegt keinem Zweifel, daß die intercelluläre Verdauung dieser Bakterien mit einer sehr großen Schnelligkeit erfolgt. Auch bleibt die Injektion eines solchen Materials an gesunde Affen ohne Erfolg, was auf das intracelluläre Abtöten der von Mikrophagen aufgenommenen Spirillen hindeutet.

Fig. 7. Intracelluläre Bakterien während des Heilungsvorganges der menschlichen Peritonitis.

Während nun die Zerstörung der Recurrensspirillen in Phagocyten mit Leichtigkeit nachgewiesen werden kann, gelingt es niemals, das Absterben dieser Bakterien im Blutplasma zu konstatieren. Man hat wohl einige Male das Zusammenballen der Spirillen in den letzten Stadien der Krankheit beobachtet; die Spirillen blieben dabei aber noch beweglich, folglich lebend. Mamurofsky hat an gefärbten Präparaten ein eigentümliches Aussehen der Spirillen beschrieben, welches er als eine Absterbeerscheinung deutete. Die Spirillen färbten sich dabei nicht der ganzen Länge nach, sondern zeigten ungefärbte Zwischenräume. Dieses Phänomen ist aber rein künstlich und kann nach Willkür durch zu starkes Erhitzen der Präparate erzeugt werden.

Wenn man sowohl beim Menschen als auch bei Affen das Verschwinden der Spirillen aus dem Blute während der Krisis verfolgt, sieht man diese Bakterien in lebhaft beweglichem Zustande und in ihrer normalen Gestalt. SAWTSCHENKO & MELKICH[88] konnten in ihren Untersuchungen über dieses Thema ebenfalls keine Zeichen vom Absterben der Spirillen, auch in den letzten Stadien ihrer Gegenwart im Blute, wahrnehmen. Es ist somit unmöglich anzunehmen, daß das Verschwinden dieser Bakterien beim Heilungsprozesse auf ihrer Auflösung in der Blutflüssigkeit beruht. Die Spirillen werden dagegen in den Phagocyten, namentlich in den Milzmikrophagen, verdaut: eine Schlußfolgerung, welche durch das Auffinden dieser Mikrobien in den Leukocyten der Milz beim Menschen durch SUDAKEWITSCH[173] vollauf bestätigt wird.

Wie sind nun die soeben erwähnten, genau beobachteten Tatsachen mit der bakteriziden Eigenschaft des kritischen Blutes zu vereinbaren? GABRITSCHEWSKY[174] hat mit vielem Nachdruck betont, daß das Blutserum von Leuten, welche an Rückfallfieber erkranken, eine viel stärkere bakterizide Wirkung auf Spirillen in vitro ausübt, wenn das Blut während der Krisis oder zu Beginne der Apyrexie, als im Verlauf des fieberhaften Zustandes entnommen wurde. Aus dieser mehrmals bestätigten Tatsache hat GABRITSCHEWSKY geschlossen, daß die natürliche Heilung bei der Recurrens vorzugsweise durch Abtötung der Spirillen im Blutplasma, dank der bakteriziden Kraft der flüssigen Bestandteile des lebenden Blutes bedingt wird. Falls diese Annahme richtig wäre, hätte man doch das Abtöten, resp. das Zerfallen von Spirillen frischer Blutpräparate wahrnehmen müssen. Der gegenteilige Befund beweist vielmehr, daß die von GABRITSCHEWSKY beobachteten Erscheinungen erst nach dem Defibrinieren des Blutes außerhalb des Organismus sich gestalten können. Unter diesen Bedingungen erfahren die Leukocyten starke Läsionen, welche sowohl das Fibrinferment als auch die Cytasen in Freiheit lassen. Das schnelle Zerfallen von Spirillen im kritischen Blute erklärt sich durch das Vorhandensein im letzteren vom spezifischen Fixator (Ambozeptor), welcher, sich auf Spirillen fixierend, diese Mikrobien der Einwirkung der Cytase zugänglich macht. Da nun im lebenden Organismus dieses bakterizide Ferment nicht frei im Blutplasma kreist, sondern fest an Leukocyten gebunden ist, so ist es klar, daß ein Abtöten der Spirillen unter solchen Bedingungen unmöglich ist. IWANOFF[155] und nach ihm andere Forscher haben nachgewiesen, daß das apyretische Blut von Recurrenskranken eine schützende Wirkung hat. SAWTSCHENKO & MELKICH haben in einem solchen Blute das Vorhandensein vom spezifischen Fixator angenommen.

In den letzten Jahren hat LEVADITI mit ROCHÉ[176] wichtige Untersuchungen über den Prozeß der Heilung beim afrikanischen Rückfallfieber angestellt. Diese Forscher haben konstatiert, daß die Krisis bei infizierten Ratten von der ergiebigen Phagocytose eingeleitet wird. Erst 24 und 48 Stunden später erscheinen im Blutserum die Antikörper in Form der Fixatoren (Bakteriolysine) und der Tropine. Diese Forscher nehmen an, infolge dieser Ergebnisse, daß diese Antikörper nicht als Ursache, sondern als Folge der kritischen Abtötung der Spirochäten erscheinen.

Einige von diesen Mikrobien, welche sich aus Phagocyten befreien konnten, erweisen sich als unempfindlich gegen die Heilkräfte

des Organismus. Dadurch kann es zum Rückfall kommen, welcher indessen nicht lange dauert, da die erneute Phagocytose auch diese widerstandsfähigeren Spirochäten überwältigt.

Nach allen diesen Daten läßt sich demnach der Heilungsvorgang beim Rückfallfieber folgendermaßen deuten. Während des Fieberstadiums werden zuerst nur wenige Spirillen von Mikrophagen aufgenommen. Dieselben werden intracellulär verdaut, worauf die Phagocyten eine der dabei wirkenden Substanzen, und zwar den Fixator, in das Blutplasma ausscheiden. Infolge seiner spezifischen Verwandtschaft wird dieser Fixator von Spirillen festgebunden, welche dabei lebendig, beweglich und vermehrungsfähig bleiben. Trotzdem werden sie in diesem Zustande mit großer Leichtigkeit von Phagocyten aufgenommen, welche dazu noch eine viel größere Gewandtheit als zu Beginn der Erkrankung erlangen. So kommt es, daß im lebenden Organismus keine Zerstörung von Spirillen im Plasma, dagegen eine sehr starke intracelluläre Abtötung und Verdauung im Innern von Mikrophagen erfolgt.

Es kann somit nicht bezweifelt werden, daß der natürliche Heilungsvorgang beim Rückfallfieber unter einer hervorragenden Beteiligung der Phagocyten abläuft. In dieser Beziehung besteht somit eine große Aehnlichkeit mit den Erscheinungen, welche bei Genesung von echten lokalen Entzündungskrankheiten, wie z. B. beim Erysipel, konstatiert werden. Diese auffallende Analogie bringt eine neue Stütze für die Ansicht, daß septische Erkrankungen, wie Recurrens, auch eine Entzündungsform darstellen, welche, anstatt zu lokalisieren, sich sofort im ganzen Blute verallgemeinert und eine Art Blutentzündung, Hämitis, darstellt.

Die Phagocytose, welche eine so wichtige Rolle bei der Heilung des Rückfallfiebers spielt, erscheint auch als ein bedeutendes Verteidigungsmittel gegen die chronischen Spirillosen. Bei der Syphilis ist die starke Verbreitung der Phagocytose durch eine ganze Reihe Forscher, worunter ich Gierke[177], Levaditi[178] und vor allem Ehrmann[179] erwähne, nachgewiesen. Dabei sind es die Makrophagen, welche die Hauptrolle spielen, was mit Leichtigkeit die längst konstatierte Tatsache erklärt, daß in Syphilomen die mononukleären Zellen ganz besonders vorherrschen.

Es ist interessant, daß, während bei der Syphilis eine sehr ausgiebige Phagocytose zustande kommt, die humoralen Antikörper sich gar nicht auffinden lassen. Uhlenhuth und Mulzer[180] haben besonders betont, daß bei der experimentellen Syphilis der Kaninchen, welche ganz gut spontan ausheilt, es ihnen unmöglich war, irgendwelche Antikörper in der Blutflüssigkeit aufzufinden.

Nach manchen bei Malariafieber gemachten Befunden ist es ebenso wahrscheinlich, daß auch bei dieser Septikämie der natürliche Heilungsvorgang durch Phagocyten bewerkstelligt wird. Freilich sind dabei nicht die Mikrophagen, wie bei der menschlichen Recurrens, sondern Makrophagen beteiligt.

Das Eingeschlossensein von amöboïden Stadien der Malariaparasiten in einkernige Blutkörperchen, sowie in Sternzellen der Leber und in Pulpazellen der Milz ist von einer ganzen Reihe Forscher beobachtet worden. Halbmondförmige Stadien kommen dagegen nur ganz ausnahmsweise im Innern von diesen Makrophagen vor. Es war von vornherein klar, daß Malariaparasiten im lebendigen Zu-

stande aufgefressen werden, da ja darauf verschiedenartige Ergebnisse einstimmig hindeuteten. Vincent[181] hat aber eine ganze Reihe Tatsachen sehr genau festgestellt, welche die Schlußfolgerung unzweifelhaft beweisen, daß Makrophagen vollkommen lebendige und bewegliche Malariaamöben in sich aufnehmen. Es gelang ihm, bei den aus dem Makrophagenprotoplasma befreiten Parasiten noch deutliche amöboïde Bewegungen zu beobachten.

Daß diese Phagocytose bei Malariafieber zur Zerstörung spezifischer Parasiten führt, darf ebenfalls nicht bezweifelt werden. In dieser Beziehung kann ich ein interessantes Beispiel anführen. Bei der Sektion eines Mannes, welcher an croupöser Pneumonie erkrankte und unter Erscheinungen der Pleuritis und Pericarditis starb, fiel es besonders auf, daß die Milz schwarz gefärbt erschien. Es handelte sich um ein Individuum, welches früher an Malariafieber litt, von dem er indessen vollkommen genas. Die mikroskopische Untersuchung erwies eine sehr große Menge pigmenthaltiger Makrophagen, welche indessen gar keine Malariaparasiten enthielten. Beim Vergleich eines solchen Befundes mit der bekannten Erscheinung bei an Malaria Verstorbenen, wo Milzmakrophagen nicht nur Pigment, sondern auch ganze Malariaamöben enthalten, kommt man notwendigerweise zu dem Schluß, daß bei der Genesung die Parasitenleiber von Makrophagen verdaut werden, wobei ausschließlich das dauerhafte Melanin übrigbleibt.

Die heilende Rolle der Phagocyten offenbart sich aber nicht nur bei den Infektionskrankheiten pflanzlichen oder tierischen Ursprungs. Rindfleisch[182] hat sehr interessante Tatsachen über die Tophi bei der Gicht mitgeteilt, aus welchen hervorgeht, daß bei dieser Krankheit des Stoffwechsels Makrophagen ebenfalls eine sehr bedeutende Funktion ausüben.

Rindfleisch hebt hervor, daß gichtische Tophi kleiner werden und ganz verschwinden können. An sich selbst konnte er feststellen, daß die zuerst entstandenen Tophi ganz unfühlbar und andere um die Hälfte kleiner und dabei wie in kleine Körnchen zerbröckelt erschienen. „Wenn ich mich nicht täusche“ — setzt Rindfleisch zu — „so wird diese Verkleinerung durch Freßzellen besorgt, die sich in Gestalt von vielkernigen Riesenzellen an die am meisten peripherisch gelegenen Harnsäureballen anlagern, sie allmählich ganz einschließen und zur Auflösung bringen.“ Und ferner: „. . . . ich bin zu der Ansicht gekommen, daß die Riesenzellen an der Grenze des Bindegewebes die Bedeutung von Freßzellen haben, die unter günstigen Bedingungen eine Verkleinerung des Harnsäuredepots wohl bewirken könnten“ (S. 368).

Diese Erscheinung erinnert durchaus an das von Besredka beschriebene (im Kapitel V erwähnte) Auffressen von Kristallen des Arsentrisulfids durch Makrophagen, welche schließlich diese Substanz intracellulär auflösen. Auch ist die Beobachtung von Rindfleisch bedeutungsvoll, indem sie von neuem die phagocytäre Rolle der Riesenzellen bestätigt.

Das Beispiel der spontanen Heilung der gichtischen Tophi grenzt an das weite und noch sehr wenig erforschte Gebiet, wo Phagocyten nicht gegen feste Körper, sondern gegen gelöste Gifte verschiedenartigster Natur auftreten. Dieses Gebiet gehört übrigens nicht

in den Abschnitt über echt phagocytäre Leistungen des Organismus, welches uns hier speziell beschäftigt.

Vor über einem halben Jahrhundert hat Virchow den berühmten Satz ausgesprochen, daß er den weißen Blutkörperchen einen Platz in der Pathologie vindiziert. Dies geschah in Verbindung mit der Entdeckung einer Krankheit (Leukämie), bei welcher die Vermehrung der Leukocyten eine ganz außerordentliche ist. Eine Zeitlang glaubte man, daß diese Zellen etwas Schädliches an sich repräsentieren und befürchtete deren Ansammlung und Vermehrung. Seit dem Beginne der mikrobiologischen Periode in der Medizin hat man indessen erkannt, daß leukocytenreiche Substrate nicht infolge des Vorhandenseins vieler weißer Blutkörperchen, sondern nur als Träger viel kleinerer Bakterien schädlich sein können. Dann erfolgte eine ganze Umwälzung in der Auffassung der Leukocyten, und diese Zellen wurden als ganz hervorragende Faktoren in der Tätigkeit des Organismus unter normalen sowohl wie unter abnormen Bedingungen anerkannt.

Es unterliegt wohl keinem Zweifel mehr, daß Leukocyten und andere ihnen verwandte Phagocyten vom Beginne des Lebens bis zu seinem Ende eine große Rolle spielen. Viele einzellige und mehrzellige niedere Organismen können ihr Leben nur durch die intrazelluläre Verdauung unterhalten. Während der embryonalen Entwicklung verschiedenster, darunter sehr hoch entwickelter Organismen, hat die phagocytäre Funktion eine sehr weittragende Bedeutung. Die Ausnutzung des Nahrungsdotters für die Entwicklung des Embryo wird durch die Phagocytose ermöglicht. Im weiteren Verlaufe der Entwicklung, z. B. bei der Metamorphose verschiedenster Tiere, verursachen die Phagocyten die tiefsten Veränderungen der äußeren Gestalt, sowie der inneren Organisation, indem sie ganze Organe auffressen und zum Verschwinden bringen.

Einmal aufgewachsen, wird der Organismus durch Phagocyten in seiner Integrität unterstützt. Zellige Bestandteile, welche sich nicht auf der Höhe ihrer Funktionstätigkeit erhalten können, werden unbarmherzig von Makrophagen aufgefressen und durch kräftigere Elemente ersetzt. Schädliche Faktoren verschiedenartigster Natur werden von Phagocyten, Makrophagen und noch mehr von Mikrophagen verfolgt, wodurch dem Organismus seine Immunität gesichert wird. Aber auch in den Fällen, wo diese schützende Rolle erlahmt und der Organismus erkrankt, wird die Tätigkeit der Phagocyten auf die Zerstörung und Entfernung der Krankheitsstoffe gerichtet, was in den meisten Fällen zur Genesung führt.

Beim Altern des Organismus ist der Anteil der Phagocytose ebenfalls sehr bedeutend, indem die abgeschwächten Elemente edler Organe durch viel widerstandsfähigere Phagocyten zerstört werden.

Immunität, Atrophie, Entzündung und Heilung, sämtlich Erscheinungen, welche in der Pathologie die größte Bedeutung haben, werden meistens durch die Beteiligung der Phagocyten zustande gebracht. Unter solchen Umständen ist es schwer, die Rolle der Phagocyten zu überschätzen, wie man es mir so oft vorgeworfen hat.

Bei der Verdauung der Nahrungssoffe beim Menschen und bei höheren Tieren wird die Hauptarbeit durch Pankreas geleistet, wie es allgemein und einstimmig anerkannt wird. An der Sache wird nichts wesentlich geändert, wenn Pankreasfermente einer Mithilfe von Kinasen bedürfen: die Pankreas bleibt doch das wichtigste Verdauungsorgan. Bei der intracellulären Verdauung verschiedenster Art sind in einem ebensolchen Maße die Phagocyten beteiligt, welche den Hauptfaktor bei der Verteidigung des Organismus bei Infektionskrankheiten darstellen. Daraus ist der allgemeine Schluß zu ziehen, daß alles, was Phagocyten stärkt, dem Organismus in diesem Kampfe gegen Mikrobien zugute kommen muß.

Jetzt, wo nach jahrelangem Kampfe die Fundamente der Phagocytenlehre ziemlich allgemein anerkannt wurden, fängt man schon an, an ihre praktische Anwendung zu denken. So wird die Phagocytose für die Prognose einiger Infektionskrankheiten benutzt. Sie dient auch als Kriterium für die opsonische und topische Wirksamkeit der Körperflüssigkeiten.

Die so empfindlichen Phagocyten können durch verschiedenartige Substanzen in ihrer mikrobienwidrigen Tätigkeit stimuliert werden. M. Neisser und Guerrini[183] haben eine ganze Reihe chemischer Stimuline aufgedeckt. worunter bestimmte Peptonlösungen eine besonders starke Wirkung ausüben. Sehr verdünnte Chininlösungen erhöhen auch die Phagocytose in einem hohen Grade. Opie konnte eine Heilwirkung von eingeführten Leukocyten auf die Tuberkulose der Hunde feststellen. Wir haben schon oben der wichtigen Ergebnisse von Pettersson über die therapeutische Rolle der Phagocyten Erwähnung getan. Nach alledem ist es erlaubt zu hoffen, daß in der Zukunft eine, auf Grund der Phagocytose ausgebaute Prophylaxis und Therapeutik in die Heilkunde eingeführt werden.

Literatur.

[1] Panum, Virchows Archiv, **1874**, Bd. 60, 347. — [2] Roser, Beiträge zur Biologie niederster Organismen, Marburg **1881**. — [3] Metschnikoff, Arbeiten des zoolog. Instit. in Wien, **1883**, Bd. 5, 141; Ann. Past., **1887—1892**, T. 1—6. — [4] Stahl, Botanische Zeitung, **1889**, 163. — [5] Pfeffer, Abhandl. d. mathem.-phys. Klasse d. K. Sächs. Gesell. d. Wiss., **1890**, Bd. 16, 161. — [6] Celakowsky jun., Flora, **1892**, Bd. 76. — [7] A. Lister, Journal of the Linnean Society, **1890**, Vol. 25, Botany, 435. — [8] Krukenberg, Untersuchungen a. d. physiolog. Institute zu Heidelberg, **1878**, Bd. 2, 273. — [9] Metschnikoff, Ann. Past., **1889**, T. 3, 25. — [10] Noël Bernard, Bulletin de l'Instit. Past., **1909**, T. 7, 369. — [11] Tsujitani, Centralbl. f. Bakt., **1898**, Bd. 24, 666. — [12] Mouton, Ann. Past., **1902**, T. 16, 457. — [13] Nirenstein, Zeitschr. f. allg. Physiologie, **1905**, Bd. 5, 435. — [14] Mesnil & Mouton, Comptes rendus de la Soc. de Biologie, **1903**, 1016. — [15] Mesnil, Ann. Past., **1901**, T. 15, 352. — [16] Joh. Müller, Abhandlungen der K. Akad. d. Wiss. zu Berlin, **1849—1855**. — [17] Weismann, Zeitschr. f. wissenschaftl. Zoologie, **1864**, Bd. 14. — [18] Kowalevsky, ebd., **1887**, Bd. 45. — [19] van Rees, Zoologische Jahrbücher, Abt. Anatomie, **1888**, Bd. 3. — [20] Korotneff, Biolog. Centralbl., **1892**, Bd. 12. — [21] Karawaieff, Zeitschr. f. wiss. Zool., **1898**, Bd. 64. — [22] Nötzel, Virchows Arch. f. pathol. Anat., **1897**, Bd. 151. — [23] Terre, Compt. rend. de la Soc. de Biol., **1898—1900**. — [24] Berlese, Zoolog. Anzeiger, **1900—1901**, Bd. 23, 24. — [25] Anglas, Bull. scien. de la France et de la Belgique, **1900**, T. 34. — [26] Vaney, Ann. de l'Univ. de Lyon, **1902**. — [27] C. Pérez, Bull. scient. de la France et de la Belgique, **1902**, T. 37, 195; Archives de Zoologie expérimentale, **1910**, T. 4, Série 5, 1. — [28] Metschnikoff, Biolog. Centralbl., **1883**. — [29] Ders., Ann. Past., **1892**, T. 6, 1. — [30] Loos, Preisschriften gekrönt u. herausgegeb. v. d. fürstl. Jablonowskischen Gesellsch. zu Leipzig, **1889**. — [31] Bataillon, Ann. de l'Univ. de Lyon, **1891**. — [32] Helme, Transactions of the R. Society of Edinburgh, **1889**, Bd. 35, Nr. 8. — [33] Matschinsky, Ann. Past., **1900**,

T. 14, 113. — [34] Marinesco, Compt. rend. de l'Acad. d. scienc., 23. Avril, **1900**. — [35] Hansemann, Descendenz u. Pathologie, Berlin **1909**, 422. — [36] Saigo, Virchows Archiv, **1907**, Bd. 190. — [37] Ribbert, Der Tod aus Altersschwäche, Bonn **1908**. — [38] Vallée, Compt. rend. de la Soc. de Biologie, **1903**, 127. — [39] Porcher, Arch. de méd. expér., **1895**, T. 7, 488. — [40] Metschnikoff, Ann. Past., **1901**, T. 15, 865. — [41] Marchand, Presse méd., **1901**, 14 août. — [42] Franca & Athias, Compt. rend. de la Soc. de Biol., **1899**. — [43] Joukowsky, Ann. Past., **1900**, T. 16, 464. Ossipoff, ibid., 769. — [44] Krauss, Journal of nervous and ment. diseases, **1896**. — [45] Marinesco, XIII. Congrès international de Médecine, **1900**; Compt. rend. de la Soc. de Biol., **1896**. — [46] Nissl, Arch. f. Psych., **1899**, Bd. 28, 36. — [47] Anglade & Rispal, IX. Congrès des aliénistes et neurologistes, Angers **1898**. — [48] Valenza, Atti d. R. Acad. delle sc. fis. et nat. di Napoli, **1894**, Vol. 8; Compt. rend. de la Soc. de Biol., **1896**. — [49] Pugnat, Compt. rend. de la Soc. de Biol., **1898**. — [50] Orr & Cowen, Journal of mental science, **1900**, October. — [51] Ranvier, Leçons sur l'histologie du système nerveux. — [52] Ann. Past., **1892**, 13. — [53] Langhans, Virchows Arch., **1870**, Bd 49, 66. — [54] Korschun & Morgenroth, Berl. klin. Woch., **1902**, Nr. 37. — [55] Sawtschenko & Berdnikoff, Arch. russes de pathol. etc., **1902**, T. 14, 760. — [56] Donath & Landsteiner, Wiener klin. Rundsch., **1902**, Nr. 40. — [57] Domeny, Wiener klin. Woch., **1902**, Nr. 40. — [58] Tarassewitsch, Ann. Past., **1902**, Nr. 2. — [59] Levaditi, ibid., **1903**, T. 17, 187. — [60] Metschnikoff, ibid., **1899**, T. 13, 737. — [61] Kling, Zeitschr. f. Immunitätsforschung, **1910**, Bd. 7. — [62] Bordet, Ann. de l'Inst. Past., **1898**, T. 12, 688; **1899**, 273. — [63] Ehrlich & Morgenroth, Berl. klin. Woch., **1899—1901**. — [64] Metschnikoff, Immunität bei Infektionskrankheiten. Deutsch von J. Meyer, **1902**. — [65] Neufeld, Arbeiten a. d. K. Gesundheitsamte, **1908**, Bd. 28, 132—134. — [66] Sawtschenko, Ann. Past., **1902**, T. 16, 106. — [67] Ders., Archives des sciences biologiques St. Pétersbourg, **1909**, T. 15; **1910**, T. 16. — [68] Leber, Fortschr. d. Med., **1888**, 460; Die Entstehung d. Entzündung, Leipzig **1891**. — [69] Massart & Ch. Bordet, Journ. publ. p. la soc. d. sc. méd. et nat. de Bruxelles, **1890**, 3 février. — [70] Stöhr, Virchows Arch., **1884**, Bd. 97, 211. — [71] Durham, Quarterly journ. of microsc. science, **1892**, Vol. 33, 81—123. — [72] Racovitza, Compt. rend. de l'Acad. d. sc., **1895**, T. 120, 464. — [73] Schneider, Zeitschr. f. wiss. Zoolog., **1899**, Bd. 66, 497. — [74] Lieberkühn, Müllers Archiv, **1856**. — [75] Metschnikoff, Zeitschr. f. wiss. Zoolog., **1879**, Bd. 32, 371. — [76] Ders., Virchows Arch., **1884**, Bd. 96, 177. — [77] Ders., ibid., **1884**, Bd. 97, 502. — [78] v. Christmas, Fortschr. d. Med., **1887**, Bd. 5, 401. — [79] Hess, Virchows Arch., **1887**, Bd. 109, 384. — [80] Rogowitsch, Zieglers Beitr. z. patholog. Anat., **1888**, Bd. 4, 291. — [81] Metschnikoff, Ann. Past., **1889**, T. 3, 194. — [82] Ruffer, Brit. med. journ., **1890**, 24 Mai. — [83] Leclainche & Vallée, Ann. Past., **1900**, T. 14, 202. — [84] Vaillard & Vincent, ibid., **1891**, T. 5, 1. — [85] Vaillard & Rouget, ibid., **1892**, T. 6, 385. — [86] Besson, ibid., **1895**, T. 9, 179. — [87] Metschnikoff, Leçons sur la pathologie comparée de l'Inflammation, Paris **1892**. — [88] Sawtschenko & Melkich, Annal. Inst. Past., **1901**, T. 15, 497. — [89] J. Bordet, ibid., **1897**, T. 11, 177. — [90] Marchand, Arch. de méd. expér., **1898**, T. 10, 253. — [91] Wallgren, Zieglers Beiträge z. path. Anat., **1899**, Bd. 25, 206. — [92] Weil, Arch. f. Hyg., **1905**, Bd. 52, 54. — [93] Sulima, Ann. Inst. Past., **1909**, T. 23, 911. — [94] Schattenfroh, Arch. f. Hyg., **1896**, Bd. 26, 234. — [95] Skschiwan, Ann. Past., **1899**, T. 13, 770. — [96] Ribbert, Der Untergang path. Schimmelpilze im Körper, Bonn **1887**. — [97] Renon, Étude sur l'aspergillose chez l'homme et les animaux, **1897**. — [98] Laveran & Mesnil, Ann. Past., **1901**, T. 15, 763. — [99] N. Tschistowitsch, ibid., **1889**, T. 3, 337. — [100] Dembinski, ibid., **1899**, T. 13, 426. — [101] Mesnil, ibid., **1895**, T. 9, 301. — [102] Denys & Havet, La Cellule, **1894**, T. 10, 1. — [103] H. Buchner, Münch. med. Woch., **1894**, 717. — [104] J. Bordet, Ann. Past., **1895**, T. 9, 462. — [105] Gengou, ibid., **1901**, T. 15, 68. — [106] Schattenfroh, Arch. f. Hyg., Bd. 31 u. 35. — [107] Pettersson, ebd., Bd. 43; Centralbl. f. Bakt., Bd. 35, 40, 42, 45, 46, 50, 53; Zeitschr. f. Immunitätsforschung, **1909**, Bd. 1. — [108] Bordet & Gengou, Ann. Past., **1901**, T. 15, 289. — [109] R. Pfeiffer, Zeitschr. f. Hyg., **1895**, Bd. 20, 198. — [110] Malvoz, Ann. Past., **1902**, T. 16, 623. — [111] Bail, Centralbl. f. Bakt., **1903**, Bd. 33, 343. — [112] Wright, Studien über Immunisierung und ihre Anwendung in der Diagnose und Behandlung von Bakterieninfektionen. Jena **1909**. — [113] Neufeld & Rimpau, Deutsche med. Wochenschr., **1904**, Bd. 30, 654. — [114] Baecher, Zeitschr. f. Hyg., **1907**, Bd. 56, 33. — [115] Levaditi & Inmann, Compt. rend. de la Soc. de Biol., **1907**, T. 62, 683, 725, 817, 869. — [116] Levaditi & Kössler, ibid., 685. — [117] Mutermilch, ibid., **1909**, T. 67, 654. — [118] Hamburger & Hekma, Biochemische Zeitschr., **1907**, Bd. 7, 102; Bd. 9, 512. — [119] Hamburger & de Haan, ebd., **1910**, Bd. 24, 304, 470. — [120] Bail, Arch. f. Hyg., **1905**, Bd. 52, 272; Bd. 53, 302; Wiener klin. Wochenschr., **1905**, Bd. 18, 428; Münch. med. Wochenschr., **1905**, Bd. 52, 1865 u. 1935. —

[121] BOUCHARD, Les microbes pathogènes, **1892**. — [122] CHARRIN & ROGER, Compt. rend. de la Soc. de Biol., **1889**–**1891**. — [123] PASTEUR, Compt. rend. de l'Acad. de sc., **1880**, T. 90, 243. — [124] METSCHNIKOFF, Virch. Arch., **1888**, Bd. 114, 465. — [125] DE NITTIS, Ann. Past., **1901**, T. 15, 769. — [126] METSCHNIKOFF, ibid., **1887**, T. 1, 42. — [127] SOBERNHEIM, Zeitschr. f. Hyg., **1899**, Bd. 31, 89. — [127] E. v. BEHRING, Enzyklopäd. Jahrbücher, **1900**, Bd. 9, 203. — [128] SAWTSCHENKO, Ann. Past., **1897**, T. 11, 865. — [129] SALIMBENI, ibid., **1898**, T. 12. 192. — [130] CANTACUZENE, ibid., 273. — [131] GARNIER, ibid., **1897**, T. 11, 767. — [132] ABEL, Centralbl. f. Bakt., **1896**, Bd. 20, 766. — [133] ASCHER, ebd., **1902**, Bd. 32, 449. — [134] LEVADITI, Ann. Past., **1901**, T. 15, 894. — [135] Ders., Presse méd., **1900**, 339. — [136] BRISCOE, Arb. a. d. K. pathol. Inst. in Göttingen, **1903**, 14. — [137] LEVADITI, Ann. Past., **1902**, T. 16, 233. — [138] METSCHNIKOFF, Ann. Past., **1891**, T. 5, 465. — [139] SANARELLI, ibid., **1893**, T. 7, 225. — [140] MESNIL, ibid., **1896**, T. 10, 369. — [141] PFEIFFER, Zeitschr. f. Hyg., **1894**, Bd. 17, 1. — [142] J. BORDET, Ann. Past., **1896**, T. 10, 193. — [143] PFEIFFER & MARX, Zeitschr., f. Hyg., **1898**, Bd. 27, 272. — [144] WASSERMANN & TAKAKI, Berl. klin. Wochenschr., **1898**, 209. — [145] DEUTSCH, Ann. Past., **1899**, T. 13, 689. — [146] WASSERMANN & CITRON, Deutsche med. Wochenschr., **1905**, 573; Zeitschr. f. Hyg., **1905**, Bd. 50, 331. — [147] SALIMBENI, Ann. de l'Inst. Past., **1909**, T. 23, 558. — [148] MAX GRUBER, Münch. med. Wochenschr., **1896**, 277 u. 310. — [149] METSCHNIKOFF, Ann. Past., **1892**, T. 6, 289. — [150] CHARRIN & GAMALEÏA, Compt. rend. de la soc. de biol., **1890**, 294. — [151] DENYS & LECLEF, La Cellule, **1895**, T. 11, 177. — [152] NEUFELD & RIMPAU, Deutsche med. Wochenschr., **1904**, Bd. 30, 1458; NEUFELD & TÖPFER, Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, 456; NEUFELD & HÜHNE, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 25. — [153] KLEIN, Centralbl. f. Bakt., **1893**, Bd. 13, 426. — [154] ISSAEFF, Zeitschr. f. Hyg., **1894**, Bd. 16, 287. — [155] FUNK, La Sérothérapie de la fièvre typhoïde, **1896**. — [156] BORDET, Ann. Pasteur, **1897**, T. 11, 177. — [157] GEORGIEWSKY, ibid., **1899**, T. 13, 298. — [158] CITRON, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 53. [159] CHOUKEWITSCH, Ann. Past., **1910**, T. 24, 728. — [159] A. BESREDKA, ibid., T. 13, 42. — [160] Ders., ibid., **1905**, T. 19, 477. — [161] BAIL & WEIL, Wiener klin. Wochenschr., **1906**, 839. — [162] LUBARSCH, Dtsch. med. Wochenschr., **1898**, 501, 523, 539. — [163] PONFICK, Berl. klin. Wochenschr., **1900**, 225, 258, 276. — [164] CORNIL in CORNIL & RANVIER, Manuel d'histologie patholog., 3. édit., **1901**, T. 1, 117. — [165] J. ARNOLD, Virch. Arch., **1893**, Bd. 132, 133. — [166] F. MARCHAND, Der Prozeß der Wundheilung, Stuttgart **1901**. — [167] MAXIMOW, Zieglers Beitr. z. path. Anat., 5. Supplementheft, **1902**. — [168] HUGENSCHMIDT, Ann. Past., **1896**, T. 10, 545. [169] RIBBERT, Die pathol. Anat. u. Heilung d. durch d. Staphyloc. pyog. aur. hervorgerufenen Erkrank., Bonn **1891**. — [170] FEHLEISEN, Deutsche Zeitschr. f. Chir., **1882**, Bd. 16, 395, 496. — [171] METSCHNIKOFF, Virch. Arch., **1887**, Bd. 107, 209. — [172] Ders., ebd., Bd. 109, 176. — [173] SUDAKEWITSCH, Ann. Past., **1891**, T. 5, 545. — [174] GABRITSCHEWSKY, ibid., **1896**, T. 10, 630. — [175] IWANOFF, Zur Frage über die künstliche Immunität beim Rückfallfieber, St. Petersburg **1897** (russisch). — [176] LEVADITI & ROCHÉ, Compt. rend. Soc. Biol., **1907**. T. 62, 619, 815. — [177] GIERKE, Münch. med. Wochenschr., **1906**, Nr. 9; Centralbl. f. Bakt., **1907**, Bd. 44, 348. — [178] LEVADITI, Ann. Past., **1906**, T. 20, 924. — [179] EHRMANN, Wien. klin. Wochenschr., **1906**, Bd. 29, 828. — [180] UHLENHUTH & MULZER, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte, **1909**, Bd. 33, 183. — [181] VINCENT, Ann. Past., **1897**, 891. — [182] RINDFLEISCH, Virch. Arch., **1893**, Bd. 171, 361. — [183] NEISSER & GUERINI, Arb. a. d. Inst. f. experim. Therapie, Frankfurt **1908**, Heft 4.

VIII.

Präzipitine.

(Bakterienpräzipitine.)

Von

R. Kraus

in Wien.

Mit 1 Figur im Text.

Einleitung.

Im Jahre 1897 habe ich[1] den Nachweis geführt, daß Immunsera in keimfreien Kulturfiltraten*) bestimmter Bakterienarten Niederschläge hervorrufen.

Wurde beispielsweise Choleraserum**) zu Filtraten aus Cholerakulturen zugesetzt, sind Niederschläge gerade so entstanden wie nach Zusatz von Typhusserum zu Filtraten aus Typhuskulturen oder von Pestserum zu solchen aus Pestkulturen. Die Niederschlagsbildung konnte aber nur unter gewissen Bedingungen beobachtet werden. Hat man nämlich zu Cholerakulturfiltraten statt Choleraserum in gleichen Mengenverhältnissen Typhus-, Pest- oder Serum normaler Tiere zugesetzt, wurden die Niederschläge vermißt und die Filtrate blieben klar. Gleiches konnte man beobachten, wenn zu Typhus- oder Pestkulturfiltraten andersartige Sera als Typhus- oder Pestserum zugesetzt wurden.

Die Bildung der Niederschläge war demnach einerseits von bestimmten Filtraten, andererseits von bestimmten Seris abhängig. Gerade diese Spezifizität war es auch, welche vermuten ließ, daß man es mit einer besonderen Art von Niederschlagsbildung zu tun und dieselbe, als different von der bisher gekannten Präzipitation chemischer Natur, biologisch aufzufassen habe. Man mußte zu der Annahme gelangen, daß im Cholera-, Pest-, Typhusserum Körper spezifischer Natur vorhanden sind, welche mit bestimmten Körpern der zugehörigen Kulturfiltrate unter Niederschlagsbildung reagieren.

Die zurzeit bereits gekannte Spezifizität der Bakteriolyse, der Agglutination machte es wahrscheinlich, daß auch das Phänomen der spezifischen Niederschlagsbildung als ein Immunitätsphänomen sui generis zu betrachten sei.

*) Die Filtrate waren entweder aus Bouillon oder Agarkulturen durch Filtration gewonnen.

**) Die Sera waren durch Immunisierung der Pferde mit Kulturen erzeugt und hatten agglutinierende Eigenschaften.

Es war anzunehmen, daß nach Immunisierung mit bestimmten bakteriellen Antigenen neben den Antitoxinen v. Behrings, R. Pfeiffers Bakteriolysinen, und den Agglutininen von Gruber und Durham, im Organismus noch Antikörper produziert werden, welche wegen der ihnen zukommenden Eigenschaft, in bestimmten Kulturfiltraten Niederschläge zu erzeugen, den Namen Präzipitine erhielten. Die Niederschläge wurden zum Unterschied von den chemischen als spezifische Niederschläge bezeichnet.

In dem folgenden Jahre haben Nicolle[2], Wladimiroff[3], Norris[4] u. a. diese Tatsachen bestätigen können und auch in Filtraten anderer Bakterienarten (Rotz, B. coli etc.) spezifische Niederschlagsbildungen beobachtet.

Eigene Untersuchungen beschäftigten sich zunächst weiter mit der Spezifizität der Reaktion, namentlich mit Bezug auf nahverwandte Bakterienarten und mit der Verwertbarkeit der Reaktion zur Differenzierung von Bakterien.

Die schon in der ersten Arbeit ermittelte Spezifizität der Reaktion war der Ausgangspunkt einer Serodiagnostik der Bakterien und Krankheiten mittels Präzipitine geworden.

Wenn auch diese Reaktion bisher nicht die praktische Bedeutung erlangt hat wie die Agglutination, hat sie doch bei einzelnen Krankheiten namentlich in der veterinären Medizin eine diagnostische Bedeutung gewonnen.

Dediulin[5], Wladimiroff haben dieses Phänomen zur Diagnosestellung des Rotzes bei Pferden herangezogen und durch spätere Arbeiten von Pfeiler[6], Miessner[7] u. a. hat diese Reaktion neben der Agglutination, Komplementablenkung und den Allergiereaktionen eine praktische Verwertbarkeit erhalten. A. Ascoli[8] hat in letzter Zeit zur Diagnose des Milzbrandes ebenfalls die Präzipitinreaktion mit Erfolg versucht. (Auch in der menschlichen Pathologie liegen von Bonome[9], Fornet[10], Gaehtgens[11] u. a. Versuche vor, die Präzipitinreaktion zur Diagnosestellung der Krankheiten heranzuziehen.)

Unsere weiteren Arbeiten (Kraus & Joachim, Kraus & v. Pirquet[12]) beschäftigten sich dann hauptsächlich mit der Analyse des Phänomens selbst. Es wurden die Beziehungen des Präzipitationsphänomens zur Agglutination der Bakterien eingehend studiert und so viele Analogien zwischen beiden Phänomen aufgedeckt, daß die Annahme einer Wesensgleichheit beider Phänomene nicht von der Hand zu weisen war. Die von Paltauf*) aufgestellte Agglutinationstheorie, welche von diesem Phänomen ausgegangen ist, hat durch weitere Versuche (Kraus & Seng) in dieser Richtung einen Ausbau erfahren.

Die weiteste Bedeutung aber erlangte das Phänomen der Präzipitation im Jahre 1899 durch Tchistowitsch[13] und Bordet[14].

Man wußte schon damals, daß der Organismus nicht bloß auf bakterielle Antigene mit Produktion von Antikörpern reagiere, sondern daß auch tierischen Zellen antigene Eigenschaften zukommen, da sie zur Lysin- und Agglutininbildung führen können. Tchistowitsch und Bordet haben dann zeigen können, daß auch durch

*) Ueber die Beziehungen der Bakterienpräzipitine zur Agglutination siehe dieses Handbuch: Ueber Agglutination (R. Paltauf).

Vorbehandlung mit Pferde-, Kaninchen-, Aalserum, Kuhmilch Präzipitine entstehen.

Die für Bakterienpräzipitine von mir zuerst ermittelte Spezifität konnte gleich darauf von Fisch[15], Morgenroth[16], Wassermann & Schütze[17] (1900) für die tierischen Präzipitine (Zoopräzipitine) nachgewiesen werden.

Myers[18], Nolf[19], Jacoby[20], Kowarski[21], Löwenstein haben mit pflanzlichem Antigen Präzipitine gewonnen, welche als pflanzliche, Phytopräzipitine, bezeichnet wurden.

Nachdem A. Wassermann als der erste in einer Diskussionsbemerkung gelegentlich des Kongresses für innere Medizin auf die Präzipitine als Differenzierungs- und Erkennungsmittel der verschiedenen Eiweißarten hingewiesen hatte, war es Uhlenhuth, der unabhängig speziell für forensische Zwecke, und zwar besonders für die Differenzierung von Blut, diese Methodik in ausgedehnten Versuchen ausarbeitete. Fast gleichzeitig erschien dann die Arbeit von A. Wassermann & Schütze, welche zu gleichen Ergebnissen gelangte.

Uhlenhuth[22] hatte bereits vorher mit Hühnereiweiß ein Präzipitin erzielt, welches Eiweiß verschiedener Vogeleier unterscheiden ließ und mit Serum von Hühnern ein Präzipitin erhalten, mit dem er Hühnerblut von Hühnereiereiweiß differenzieren konnte, als er daran ging, die Präzipitine zur Unterscheidung verschiedener Blutarten zu verwerten.

Diese Untersuchungen von Uhlenhuth und Wassermann & Schütze bildeten die Grundlage des biologischen Nachweises der Provenienz verschiedener Blut-Eiweißarten.

Weitere Untersuchungen von Uhlenhuth, sowie Jess zeigten, daß sich die Präzipitinmethode auch zum Nachweis von Fleisch, Milch und sonstigen eiweißhaltigen Nahrungsmitteln verwerten lasse, so daß das biologische Verfahren zum Nachweis von Verfälschungen von Nahrungsmitteln, insbesondere bei der Fleischbeschau, eine praktische Verwertung findet.

Es sei auch noch darauf hingewiesen, daß Physiologie und Pathologie diese Reaktion zur Lösung von Fragen herangezogen haben, welche mit den gekannten Methoden dieser Disziplinen nicht gelöst werden konnten.

Auch auf Gebieten, die abseits von der Medizin liegen, in der Zoologie und Botanik, fand diese Reaktion Verwertung.

So haben z. B. Uhlenhuth und Nuttall zuerst die verwandtschaftlichen Beziehungen in der Tierreihe mittels dieser Methode untersucht und, sowie auch Wassermann & Schütze, die Beziehung des Menschen zu den Affen direkt erwiesen.

Die Untersuchungen von Uhlenhuth über Linseneiweiß haben es wahrscheinlich gemacht, daß auch das tierische Eiweiß eine phylogenetische Entwicklung erfahren haben dürfte.

Obermayer & Pick[24] gelang es auf chemischem Wege, das tierische Eiweiß (Serum, Eiklar) seiner Artspezifizität zu entkleiden und mit derartig künstlich umgebauten Eiweißkörpern Präzipitine zu gewinnen, welche nur mit künstlich veränderten Eiweißkörpern verschiedener Tierarten reagiert haben (Zustandsspezifizität).

Man könnte hier der Vorstellung Raum geben, daß die in der Natur zur Arteigenheit der Eiweißkörper führenden Faktoren auf natür-

lichem Wege aus einem Ureiweiß ein artspezifisches bilden und eine originäre Spezifizität durch biologische Substitution ebenso bedingen, wie umgekehrt durch künstliche Eingriffe nach OBERMAYER & PICK dieses Eiweiß wieder entdifferenziert werden kann.

Die Artspezifizität der Eiweißkörper, welche erst mittels der Präzipitinreaktion aufgedeckt werden konnte, dürfte nicht als unabänderlich bestehend zu betrachten sein, sondern es ist die Annahme gerechtfertigt, daß auch der Aufbau der Eiweißkörper dem phylogenetischen Grundgesetz unterliege.

Nomenklatur.

Ueber die Rolle der an der Reaktion beteiligten Körper besteht auch heute noch keine einheitliche Auffassung. Von der Annahme, welcher der beiden Körper, ob Antigen oder Antikörper, aktiv oder passiv beteiligt sind, hängt auch die Benennung der beiden Körper ab.

CH. NICOLLE nannte die Substanz der Bakterien (Antigen) „substance agglutinable“, indem er dieser die passive Rolle, dagegen der im Serum (Antikörper) befindlichen „substance agglutinante“ die aktive Rolle zuschrieb.

E. P. PICK [25] hat gezeigt, daß das Bakterienpräzipitat bei Verwendung fast eiweißfreier Filtrate zum großen Teil aus Eiweiß besteht. PICK nahm aus diesem Grunde an, daß das Eiweiß hauptsächlich dem Serum entstamme und dieses von der aktiven Substanz der Filtrate gefällt werde. Nach dieser Auffassung wäre im Serum die präzipitierbare, im Filtrate die präzipitierende Substanz zu suchen.

LINOSSIER & LEMOINE [26], CAMUS [27] haben quantitative Untersuchungen über diese Frage angestellt und glauben, daß das Immunserum passiv an der Niederschlagsbildung beteiligt sei. LEBLANC [28] sagt zwar, daß der Niederschlag von beiden reagierenden Körpern herrühre, der größere Teil aber stamme doch vom Immunserum her.

Durch eine besondere Beweisführung versucht MOLL [29] diese Frage zu entscheiden. MOLL erzeugt mit Albumin ein Präzipitin, welches er durch Ammonsulfat in der Globulinfraktion des Serums gewinnt. Dieses Globulin, welches die wirksame Substanz enthält, versetzt er mit Albumin, wäscht den entstandenen Niederschlag und weist im Filtrat das Albumin quantitativ nach. Danach besteht der Niederschlag nur aus dem Globulin des Serums. v. DUNGERN und COHNHEIM [30] führen dagegen Versuche an, die eine gegenteilige Auffassung über die beteiligten Körper zulassen. Es wurde ein Präzipitin mit Plasma vom Octopus erzeugt. Das Plasma enthält einen kupferhaltigen Eiweißkörper (Hämocyanin), wodurch es leicht von anderen Eiweißkörpern unterschieden werden kann. Der Niederschlag enthielt ungefähr den 6. Teil des im Plasma enthaltenen Hämocyanins. Allerdings meint MOLL, daß der Farbstoff bloß mechanisch mitgerissen wurde, wodurch die Beweiskraft des Versuches eine Einschränkung erfahren würde.

P. TH. MÜLLER [31], FLEISCHMANN & MICHAELIS [32] nehmen an, daß beide Reagentien, sowohl Antigen als auch Antikörper gleichmäßig an der Reaktion beteiligt sind und daß weder der eine als aktiv, noch der andere als passiv anzusehen ist.

In letzter Zeit haben sich Welsh und Chapmann[33] wieder mit dieser Fragestellung beschäftigt und finden, daß das Gewicht des Präzipitates in direktem Verhältnis zu der Antiserummenge steht und von der Antigenmenge unabhängig ist. Die Hauptmenge des Präzipitats entstammt dem Antiserum, so daß es unrichtig wäre, von einer Koagulation des Antigens durch das Antiserum zu sprechen oder das Antigen als die präzipitierbare Substanz anzusehen.

Auch Adam und Arrhenius[34] glauben, daß der Niederschlag zum größten Teil aus dem Serum herrühre.

Nach einzelnen Autoren ist demnach der Antikörper als präzipitable Substanz anzusehen, andere Autoren halten dafür, daß beide Körper gleichmäßig an der Reaktion beteiligt sind, und eine Reihe Anderer wieder sehen im Antigen die präzipitierbare und im Antikörper die präzipitierende Substanz.

Nach den Arbeiten von Pick, Moll, Welsh und Chapmann dürfte durch die quantitative Bestimmung der Eiweißmenge im Niederschlag die Frage im Sinne dieser Autoren gelöst sein.

Es würde aber zu Verwirrungen der Begriffe führen, wollte man jetzt die eingebürgerte Nomenklatur im Sinne dieser letzteren Autoren ändern und eine neue an Stelle der älteren setzen.

Aus diesem Grunde möchte ich, diesen Tatsachen Rechnung tragend, die von mir vorgeschlagene Nomenklatur auch heute noch beibehalten und den antigenen Körper als Präzipitinogen, den Antikörper als Präzipitin bezeichnen.

Synonyma:	Substance agglutinable (Nicolle) Koagulin (Pick) Präzipitinogen (Kraus) Präzipitierbare Substanz (der Autoren)	Antigen
	Präzipitin (Kraus) Präzipitierbarer Körper (Pick, Moll, Welsh & Chapmann, Arrhenius) Präzipitierende Substanz (der Autoren)	Antikörper

Präzipitinogen.

Unter präzipitinogener Substanz hat man Antigene bakteriellen, tierischen und pflanzlichen Ursprungs zu verstehen, welche im tierischen Organismus die Produktion von spezifischen Antikörpern (Präzipitin) auslösen, mit welchen das Präzipitinogen spezifische Präzipitate zu bilden vermag.

Bakterielle Präzipitinogene.

Die präzipitinogene Substanz bakteriellen Ursprungs kann man entweder aus Agar- oder Bouillonkulturen durch Filtration gewinnen. Die zur Filtration verwendeten Bakterienfilter [Reichel, Pukall u. a.] sollen womöglich unbenützt sein. Nach unseren besonders darauf gerichteten Versuchen lassen Filter, welche bereits einigemal ausgeglüht worden sind, das Präzipitinogen schwer

durch. Solche Beobachtungen konnten bekanntlich auch für bakterielle Toxine gemacht werden. Aeltere Bouillonkulturen (1—2 Monate alt) liefern wirksame präzipitinogene Substanz, aber auch aus jüngeren Bouillonkulturen gewisser Bakterienarten (Cholera, Typhus) können Präzipitinogene gewonnen werden. Aus Agarkulturen wurden präzipitinogene Substanzen entweder durch hohen Druck (300 Atm.) mittels hydraulischer Presse gewonnen (Plasmin) oder durch Auflösung der bei 37° getrockneten Agarkultur in schwach alkalischer Bouillon. Die Preßsäfte oder aufgelösten Leibessubstanzen müssen selbstverständlich noch filtriert werden. Nach E. Pick (l. c.) kann man auch durch Kochsalzlösung aus frischen Agarkulturen wirksame Substanzen extrahieren. Zu diesem Zwecke wird Agar in Kolleschen Schalen oder Rouxschen Flaschen geimpft und die 24—48-stündige Kultur mit physiologischer Kochsalzlösung, destilliertem Wasser oder $n/_4$ Sodalösung abgespült.

Die so gewonnenen Bouillon- oder Agarkulturfiltrate müssen vor Licht und Wärme geschützt aufbewahrt werden, wenn sie ihre Eigenschaften nicht einbüßen sollen. Um die Filtrate steril zu erhalten, werden sie mit 0,5 Proz. Karbolsäure versetzt.

Winterberg[35], Pick, Brieger[36] haben es versucht, mittels chemisch-physikalischer Methoden das Präzipitinogen aus dem Rohfiltrat rein zu gewinnen.

Verfahren von E. P. Pick.

Versetzt man eine bestimmte Menge eines Bouillonfiltrates mit dem 6-fachen Volumen 95-proz. Alkohols, bringt den entstandenen Niederschlag auf ein Filter, preßt gut ab und trocknet bei Zimmertemperatur, so gewinnt man eine wasserlösliche bräunliche Masse, die das Präzipitinogen enthält. Um eine womöglich reine Substanz zu erhalten, kann man nach Pick die Lösung mit festem Ammonsulfate sättigen. Der entstandene Niederschlag wird abermals in Wasser gelöst und wie früher ausgesalzen, der Niederschlag mit gesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen und nach Abpressen in Wasser gelöst. Aus dieser Lösung wurde durch wiederholten Zusatz von 95-proz. Alkohol in einzelnen Fraktionen das überschüssige Ammonsulfat entfernt und endlich mit großem Ueberschuß von Alkohol ein Körper in geringer Menge ausgefällt, der sich in klebrigen, schleimigen Massen absonderte. Dieser Körper ist wasserlöslich und enthält das Präzipitinogen (Koagulin A). Nachdem Pick das Koagulin K (Agarkultur) alkohollöslich fand, verwendet er zu dessen Fällung Bleizucker im Ueberschusse. Der Niederschlag wird mit Wasser so lange gewaschen, bis im Filtrate keine Biuretreaktion mehr nachweisbar ist; der gereinigte Niederschlag wird mit schwacher Sodalösung digeriert, von dem ungelöst gebliebenen Anteil abfiltriert und die so erhaltene opaleszente Lösung dialysiert. Der Dialysierschlauch enthält die wirksame Substanz.

Verfahren nach Brieger & Meyer.

Die Versuche wurden mit Typhusbakterien gemacht. Die Autoren verwenden reinstes kristallinisches Ammonsulfat in Substanz, welches, da es seiner sauren Reaktion wegen für den vorliegenden Zweck unbrauchbar ist, durch tropfenweisen Zusatz einer äußerst verdünnten Lösung

von Ammoniumkarbonat unter fortwährendem Schütteln soweit abgestumpft wird, daß das Magma schwach aber deutlich alkalisch reagiert und ein leichter Ammoniakgeruch bemerkbar ist. Darauf gießt man Ammonsulfat in die von der Oberfläche einer 3—4-tägigen Agarkultur abgekratzten und mit Aqua dest. abgespülten, möglichst virulenten Typhusbakterien. Dieses Gemenge wird einigemal kräftig geschüttelt, wobei der leichte Ammoniakgeruch verschwindet. Ein Teil des Ammonsulfats muß ungelöst bleiben, die Typhusbakterien ballen sich dann zusammen. Nach ruhigem 1—4-tägigen Stehen im dunklen nicht erwärmten Raume werden die Bakterien abfiltriert, wobei das Hineingeraten von Salzteilchen zu vermeiden ist. Der zwischen Filtrierpapier gut abgepreßte Niederschlag wird in Wasser, dem einige Tropfen sehr verdünnter Natronlauge zugesetzt werden, suspendiert und dann im Schüttelapparat eine halbe Stunde geschüttelt. Die früher zusammengeballten Bakterien verteilen sich dabei gleichmäßig in der Flüssigkeit, wobei die Reaktion häufig sauer wird. Man muß aber darauf achten, daß die Reaktion alkalisch bleibt, weil bei saurer Reaktion das aktive Präzipitinogen leicht zerstört wird. Hierauf werden die Bakterien abfiltriert, und die restierende gelbe Flüssigkeit wird noch zweimal durch Pukallfilter geschickt.

Die filtrierte Flüssigkeit wirkt antigen, es bilden sich im Organismus Agglutinine und Präzipitine, wenn auch schwächer als mit Bakterien, weil nach dieser Behandlung noch in den Bakterien Agglutinin und Präzipitin bildende Substanz zurückbleibt. Durch Immunisierung von Kaninchen mit diesem Filtrate konnte Schütze ein Serum gewinnen, welches Typhusbakterien bis zur Verdünnung 1:1200 agglutinierte und in dem Filtrate innerhalb einer halben Stunde bei 37° C ein deutliches Präzipitat lieferte. Das von Brieger dargestellte Agglutinogen resp. Präzipitinogen gibt die Millonsche Reaktion, läßt sich mit Ammonsulfat aussalzen, ist leicht löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol. Wie bereits erwähnt, hatte Brieger gefunden, daß bei dem eben geschilderten Verfahren ein beträchtlicher Teil der Agglutinin- und Präzipitinbildenden Substanz in den Bakterienleibern zurückbleibt. In einer späteren Arbeit mit Mayer gelang es ihm, durch eine Modifikation seines ersten Verfahrens eine weit bessere Ausbeute des Agglutinogens aus den Bakterien zu erreichen. Die nach diesem modifizierten Verfahren gewonnene Flüssigkeit enthielt Agglutinogen, aber kein Präzipitinogen. Die Verfasser erklären dieses Verhalten damit, daß zur Präzipitation größere Mengen Immunkörper nötig sind als zur Agglutination (Wassermann) oder daß die starke Verdünnung der Substanz im Wasser die Ursache sein dürfte. Kraus & Joachim[37] haben aber nachweisen können, daß diese Methode geeignet ist, die Koagulabilität des Präzipitinogens abzuschwächen, ja sogar zu vernichten.

Außer mit Fällungsmethoden läßt sich das Präzipitinogen durch Einengen im Vakuum bei niederen Temperaturmengen konzentrieren, ohne hierbei eine Einbuße seiner Koagulabilität zu erleiden.

Die nach Picks Verfahren gewonnenen Präzipitinogene aus Bouillonkulturen (Koagulin A) gaben keine Biuretreaktion, wohl aber die Reaktion nach Millon. Wenn überhaupt diese Körper als Eiweißkörper zu betrachten sind, so gehören sie nach Pick nur den weit abliegenden Eiweißspaltprodukten, sicher nicht den Albumosen und wahrscheinlich auch nicht den Peptonen an.

Aus Agarkulturen (3 Tage alt) (Typhus) wurde mittels Kochsalzlösung eine Substanz extrahiert (Koagulin K), die keine Biuretreaktion, meist auch keine MILLONsche und MOLISCHsche Reaktion gab. Auch diese Körper dürften nach PICK nicht als Eiweißkörper im gewöhnlichen Sinne aufgefaßt werden. Etwas Bestimmtes läßt sich heute aber auf Grund dieser Untersuchungen über die chemische Natur dieser Antigene nicht behaupten.

Bereits CH. NICOLLE (l. c.) hat für die präzipitinogene Substanz der Bakterien gefunden, daß sie in Alkoholäther löslich und hohen Temperaturen gegenüber resistent ist. Später hat auch PICK die thermostabile Eigenschaft für die gereinigten Präzipitinogene (Koagulin A und K) beschrieben. Beide Körper konnten 5 und 10 Minuten über freier Flamme gekocht werden, ohne etwas von ihrer Wirksamkeit einzubüßen. Auch Fäulnis schädigt die Substanzen nicht sowie eine mehrere Wochen währende Verdauung mit Pepsinsalzsäure oder Trypsinsoda keinerlei Schädigung zur Folge hatte. Selbst die Einwirkung von Säure und Alkali in der Hitze vermochte Koagulin A und K nicht zu beeinträchtigen. (WINTERBERG konnte die Angaben NICOLLES betreffs der Löslichkeit der Substanz in Alkoholäther und ihrer Thermostabilität nicht bestätigen. Wir werden aber sehen, daß sowohl die Beobachtung von NICOLLE als auch die von WINTERBERG richtig sind.)

Das von PICK angenommene verschiedene Verhalten der Präzipitinogene der frischen Agar- oder der älteren Bouillonkulturen gegenüber Alkohol und thermischen Einflüssen und die darauf basierte Aufstellung der Koaguline A und K dürfte in dieser Auffassung nicht richtig sein. PICK nimmt an, daß die Bouillonfiltrate das alkoholfällbare Koagulin A enthalten und daß der Kochsalzagarextrakt alkohollösliches Koagulin K ist. Wie aber aus den Versuchen von KRAUS und JOACHIM hervorgeht, ist weder der Ursprung der Substanz (ob aus Agar- oder Bouillonkultur) noch das Alter der Kultur ausschlaggebend für die hier als Kriterium angegebenen Eigenschaften der Substanzen. Man kann sowohl aus Agar- als auch aus Bouillonkulturen alkoholfällbare wirksame Substanzen gewinnen. Die Alkohollöslichkeit und Fällbarkeit hängt ebensowenig wie ihr Verhalten gegenüber Temperaturen mit dem Ursprung der Substanz zusammen. Die präzipitinogene Substanz ist weder thermostabil, wie es NICOLLE und PICK allgemein annahmen, noch thermolabil, wie WINTERBERG meint. Der Sachverhalt ist vielmehr folgender. Man findet häufig die präzipitinogene Substanz der Bouillonkultur thermostabil im Gegensatze zur thermolabilen der Agarkulturfiltrate. Dieses Verhalten ist jedoch nicht konstant. Es können auch Bouillonkulturfiltrate thermolabil sein, andererseits Kochsalzagarfiltrate alkoholfällbares thermostabiles Präzipitinogen enthalten*).

Die bisher ermittelten Eigenschaften der präzipitinogenen Substanzen erlauben es nicht, eine Charakterisierung dieser Körper nach chemischen Prinzipien vorzunehmen. PICK meint, daß die Resistenz der präzipitinogenen Substanz der Bakterien unwillkürlich zu einem Vergleich auffordert mit Körpern ähnlicher Resistenz und hoher physiologischer Wirkung, wie sie als Vorstufen (Zymogene) von labileren Fermenten angetroffen werden. Bemerkenswert ist aller-

---

*) Siehe E. P. PICK, Bd. 1, S. 781—82.

dings, daß den eiweißfreien, alkohollöslichen Koagulinen keine sichere antigene Eigenschaft zukommt, trotzdem sie mit Präzipitin in vitro reagieren. Pick glaubt, daß antigene Eigenschaft und Präzipitierbarkeit nicht identisch sein dürften.

Die Versuche von Levaditi & Muttermilch über die Agglutininbildung mit alkohollöslichen Antigenen lassen auch keinen sicheren Schluß auf die Natur dieser Körper zu (s. C. Prausnitz, Centralbl. f. Bakt., 1911).

Tierisches Präzipitinogen.

Präzipitinogen tierischen Ursprungs ist in eiweißhaltigen Substanzen aller Tiere enthalten*).

In pathologischen Produkten, Exsudaten, Hydrocelenflüssigkeit, Ascites etc. findet sich ebenfalls Präzipitinogen (Leclainche & Vallée[38], Dieudonné[39], Mertens[40], Zulzer[41], Schütze[42], Uhlenhuth),

Ob unter pathologischen Verhältnissen Präzipitinogene auftreten, welche entweder quantitativ oder qualitativ von den physiologischen zu unterscheiden wären, wurde durch die Untersuchungen von Přibram[43] im verneinenden Sinne entschieden. Auch haben bisher die Versuche kein eindeutiges Ergebnis zu verzeichnen, welche besondere Präzipitinogene des Carcinomgewebes nachweisen wollten. (Engel[44], Kullmann[45], Löffler[46], Mertens (l. c.), Maragliano[47], Romke[48], Ranzi[49], Serafini & Diez[50], Kelling[51], Dungern[52].) Die Resultate sind insofern widersprechend, als den positiven Befunden zahlreiche negative vieler anderer Autoren gegenüberstehen. Raubitschek[52a] gelang es, mit Amyloid ein spezifisches Präzipitin herzustellen.

Ein besonderes Interesse wandte man der Frage nach der chemischen Natur des Präzipitinogens zu. Da nur eiweißhaltige Substanzen als Träger der präzipitinogenen Eigenschaft bekannt geworden sind, war zu entscheiden, ob der Eiweißkörper selbst als Präzipitinogen anzusehen sei. Diese Fragestellung wurde eifrig diskutiert; wie wir sehen werden, hat sie aber nicht nur zur Klarstellung der aufgeworfenen Frage geführt, sondern hat auch das Eiweißmolekül in seiner biologischen Strukturierung einer Analyse zugänglich gemacht.

Obermayer & Pick (l. c.) fanden, daß daß Präzipitinogen des Eiklars durch Pepsinsalzsäure zerstört wird. Oppenheimer & Michaelis[53] waren vergeblich bemüht, mittels peptischer oder tryptischer Verdauung aus dem Serum das Präzipitinogen eiweißfrei zu gewinnen. Auch die Präzipitinogene der Milch werden nach P. Th. Müller (l. c.) durch Pepsin und Trypsin zerstört. Michaelis konnte regelmäßig beobachten, daß die Präzipitierbarkeit des Blutserums durch Pepsin schon dann geschädigt ist, wenn noch ein Drittel des Eiweißes in anscheinend unveränderter koagulabler Form enthalten ist. Auch unter Einfluß der tryptischen Verdauung geht nach Michaelis & Oppenheimer die Koagulabilität sowie das antigene Vermögen des Präzipitinogens in dem Maße verloren, wie der Gehalt an koagulablem

---

*) Leblanc & Ide haben mit Eu- und Pseudoglobulin, Albumin (Rind) spezifische Präzipitine gewonnen. Diese Angaben wurden aber in der Folge nicht bestätigt (Obermayer & Pick, Rostoski, Umber, Oppenheimer, Michaelis, Landsteiner & Calvo, Ascoli). Auch Schlangengift enthält Präzipitinogen. (Lamb. scient. mem. med. and sanit. depart. of the govern. of India, 1904, 1905.)

Eiweiß abnimmt. WISSMANN[53a] findet bei seinen Untersuchungen über die künstliche Verdauung von Linseneiweiß, daß koagulables Eiweiß und Präzipitinogen der Linse einander nahestehen. Demgegenüber konnten OBERMAYER & PICK aus dem Serum und Eiklar durch Trypsinverdauung Spaltprodukte gewinnen, die kein Eiweiß enthielten (Biuretreaktion negativ) und doch noch präzipitinogene Eigenschaften besaßen (durch peptische Spaltung wurde das Präzipitinogen des Eiklars ebenso zerstört wie das Präzipitinogen des Blutserums). SACCONACHI[54] erhielt Präzipitine mit einzelnen Albumosefraktionen, die er durch Aussalzen des Verdauungsgemisches darstellte. Im Gegensatz dazu fanden andere Autoren, auch MICHAELIS, daß Albumosen und Peptone keine Präzipitinbildner sind*). FRANCESCHELLI[59] hat noch mit biuretfreien Autolysaten der Leber Niederschläge mit Präzipitin erhalten. Diese Differenzen in den Befunden will MICHAELIS damit erklären, daß die Gemische, wenigstens zu der Zeit wo sie injiziert wurden, vielleicht nicht ganz eiweißfrei waren. Es genügen, meint MICHAELIS, zur Erzeugung der Präzipitine erstaunlich geringe Mengen von Eiweiß. Die Befunde von LANDSTEINER & v. EISLER[60], FRIEDENTHAL[61], welche dahin gehen, daß mit menschlichem Harn Gesunder Präzipitine erzeugt werden, konnten durch MICHAELIS und FLEISCHMANN nicht bestätigt werden. Diese Befunde würden, wenn sie eine Bestätigung erfahren werden, allerdings dafür sprechen, daß Präzipitinogen im Gegensatz zum arteigenen Eiweiß Nieren passiere und kein Eiweißkörper sei.

MICHAELIS & OPPENHEIMER nehmen an, daß die präzipitinogene Substanz eine spezifische Gruppe des Eiweißmoleküls sei, die durch Pepsin leichter als der Eiweißkern zerstört wird, gegen Trypsin aber dieselbe Resistenz besitzt wie genuines Eiweiß. Ob diese Körper Enzyme sind oder eine nicht näher gekannte Gruppe von Eiweißkörpern, wird von diesen Autoren nicht entschieden. Auch OBERMAYER & PICK akzeptieren in ihren letzten Arbeiten den Standpunkt, daß das Präzipitinogen des Serums als Eiweißkörper zu betrachten sei. Die Versuche, welche diese Autoren mit den tryptischen Spaltprodukten des Rinderserums und Eiweißseren angestellt haben, sowie die Ergebnisse mit oxydativen Spaltprodukten, insbesondere aber Versuche mit substituierten Eiweißkörpern, mit jodierten, nitrierten oder diazotierten Produkten lassen sogar einen Einblick in die Gruppierung des Präzipitinogens im Eiweißmolekül zu.

Nach OBERMAYER & PICK erscheint es als wahrscheinlich, daß das Präzipitinogen im Eiweißmolekül um den aromatischen Komplex des Eiweißes sich gruppiert.

FRIEDEMANN & ISAAC[62] nehmen auf Grund besonderer Stoffwechseluntersuchungen an, daß das Präzipitinogen nur einen Teil des Proteinmoleküls darstellt.

Es steht fest, daß es bis heute noch nicht gelungen ist, mit Kristalloiden, Fetten und Kohlehydraten Präzipitine hervorzurufen (KLEIN[63], v. RIEGLER[64], UHLENHUTH). Nur kolloidales Eiweiß und kein andersartiges Kolloid besitzt präzipitinogene Eigenschaften. Selbst den nie-

*) Die Angaben von MYERS (l. c.), IDE[55], nach welchen es mit Wittepepton gelang, Präzipitine zu gewinnen, wurden nicht bestätigt (PICK, BASHFORD[56], LEVENE[57], POZERSKI & POZERSKA[58] u. a.).

deren Abbauprodukten des Eiweißes, Aminosäuren und Polypeptiden, fehlt der präzipitinogene Charakter.

Pflanzliches Präzipitinogen.

Das Präzipitinogen pflanzlichen Ursprungs haben außer Löwenstein[65], Kowarski (l. c.) und Schütze (l. c.) Bertarelli, Wilenko[66] Magnus & Friedenthal [67], G. Wells & Osborne[68], Gasis[69], Relander[69a], Wendelstadt & Fellmer[69b], besonders Jacoby zum Gegenstand eigener Studien gemacht. Die Untersuchungen Jacobys sind insofern interessant, als sie zeigen, daß ein durch tryptische Verdauung eiweißfrei gemachtes Ricin seine präzipitinogene Eigenschaft nicht verloren hat. Hausmann[70] hat mit Abrin dieselben Resultate zu verzeichnen. Mit kristallisiertem Edestin haben Obermeyer & Pick Präzipitine gewonnen. Hiermit würde das pflanzliche Präzipitinogen seiner Natur nach dem bakteriellen näher stehen als dem tierischen, dessen Eiweißnatur nicht zu bezweifeln sein dürfte.

Präzipitoide.

Ueber die weiteren Eigenschaften des Präzipitinogens hat man unter Heranziehung chemisch-physikalischer Faktoren Näheres ermitteln können.

Durch die Arbeiten von Tchistowitsch, Schütze, Müller, Eisenberg[71] lernte man den Einfluß höherer Temperaturen kennen. Die Beeinflussung der präzipitinogenen Substanz durch Fermente, Chemikalien, wie Säure, Laugen, Salze, Alkohol, Formalin etc. wurde durch Obermayer und Pick, Michaelis Oppenheimer, Müller, Eisenberg, Nuttall, Graham Smith[72], Schmidt[73] u. a. bekannt.

Biondi[74], Modica[75], Uhlenhuth & Beumer[76], Nuttall[77], Ferrai[78], Löffler[79] studierten den Einfluß höherer Temperaturen auf getrocknetes Serum. Nach M. A. Schmidt verträgt trockenes Serum noch 2-stündiges Erhitzen von 110°, auch nach 1-stündigem Erhitzen auf 130° bleibt das Serum reaktionsfähig und erst auf 150° erhitztes Serum ist vollständig denaturiert. Das flüssige Serum zeigt nach Nuttall, Graham-Smith diesbezüglich andere Verhältnisse. Nach Graham-Smith genügt ein 3 Minuten langes Erhitzen bei 64°, um die Reaktionsfähigkeit eines Serums zu zerstören. W. A. Schmidt und W. M. Colles aber geben an, daß 68 und 70° wohl eine Abschwächung der Reaktionsgeschwindigkeit*) zur Folge haben, ohne die Koagulabilität zu schädigen. Ja sogar bei 90° erhitzte Sera (1 Stunde) bleiben noch genügend reaktionsfähig, um mittels Präzipitin differenziert werden zu können. (Die Resultate Schmidts sind von Fornet & Müller bestätigt worden.)

(Das Verhalten des Präzipitinogens gegen Erhitzen hat besonders beim Nachweis von Fleischverfälschungen Bedeutung, wie besonders diesbezügliche Untersuchungen von Weidanz & Borchmann[79a] lehren.)

Praktische Bedeutung hat die Beinflussung des Präzipitinogens durch Alkalien und Säuren. Wichtig in dieser Beziehung ist die Feststellung von Schmidt, daß $^1/_2$-n. Natronlauge fast momentan die Reaktionsfähigkeit des Serums zerstört und auch $^1/_{40}$-n.

---

*) Die erhitzten Sera reagieren mit Präzipitin langsamer, die Flockenbildung tritt später auf als mit unerhitztem Präzipitinogen.

Lauge in 7 Stunden sie vernichtet. Dagegen haben Na_2Co_3 und NH_3 keine Wirkung auf das Präzipitinogen. Die Inaktivierung dürfte jedenfalls von der Konzentration der OH-Ionen abhängen.

Wie sich das antigene Vermögen des Präzipitinogens nach Einwirkung von chemisch-physikalischen Faktoren und nach Zerstörung der Koagulabilität verhält, darüber haben weitere Arbeiten Aufschluß bringen können.

Es war bereits durch Eisenberg & Volk[80] bekannt, daß die agglutinogene Substanz der Bakterien unter Einfluß physikalisch-chemischer Faktoren inagglutinabel werden könne, wohl aber agglutinogene Eigenschaften beibehalte. In Analogie mit den Toxoiden Ehrlichs nahmen Eisenberg & Volk auch für das Agglutinogen eine bindende und agglutinogene (haptophore) und eine koagulable Gruppe an. Nach Verlust der Koagulabilität des Agglutinogens kann die haptophore Gruppe noch intakt bleiben; sie bindet noch Agglutinin und wirkt antigen. Dieses veränderte Agglutinogen hat den Namen Agglutinoid erhalten.

Aehnliches Verhalten konnte auch beim bakteriellen und tierischen Präzipitinogen nachgewiesen werden. Kraus & Joachim fanden, daß durch thermisch-chemische Beeinflussung das bakterielle Präzipitinogen die Koagulabilität verlieren könne, ohne eine Schädigung der Bindungsfähigkeit für das Präzipitin zu erleiden. Hand in Hand mit dem Verlust der Koagulabilität konnte sogar eine Steigerung der Avidität des veränderten Präzipitinogens zum Präzipitin konstatiert werden. Derartig künstlich oder auch unter Einfluß von Licht, Luft spontan veränderte Präzipitinogene wurden als Präzipitoïde (der präzipitinogenen Substanz) bezeichnet.

Für verdünntes Hühnereiweiß fand Eisenberg, daß 1—$1^1/_2$-stündiges Erhitzen auf 78° die Koagulierbarkeit vernichtet. Durch Absorptionsversuche konnte Eisenberg jedoch nachweisen, daß solches Eiweiß eine ganz unverminderte Bindungsfähigkeit für Präzipitin aufweist. Dieses inkoagulable Hühnereiweiß vermochte die Ausflockung eines frischen Hühnereiweiß durch Präzipitin zu verhindern.

Durch diese Versuche ist wohl sichergestellt worden, daß das Präzipitinogen inkoagulabel werden kann ohne seine spezifische Bindungsfähigkeit für das Präzipitin zu verlieren.

Zu entscheiden galt es noch, ob auch das antigene Vermögen eines derart veränderten Präzipitinogens eine Aenderung erleidet oder nicht.

Kraus & Joachim konnten zeigen, daß Bakterienpräzipitine auch mit einem Präzipitinogen, welches durch bestimmte Temperaturen seiner Koagulierbarkeit beraubt wurde, gewonnen werden können. Die Versuche wurden so ausgeführt, daß zunächst ein wirksames Filtrat aus Typhusagarkulturen auf 62° durch 1 Stunde erwärmt und inkoagulabel gemacht wurde. Mit einem derart veränderten Präzipitinogen wurden Kaninchen immunisiert. Das Serum dieser Tiere enthielt ebenso wirksame Präzipitine, wie wenn es mit unverändertem Präzipitinogen behandelt worden wäre. Hiemit war noch eine weitere Analogie zu den Toxoiden aufgedeckt worden. Ebenso wie das Toxoid bei erhaltener Bindungsfähigkeit noch antigene Eigenschaften besitzt, büßt auch das Präzipitoid nach Verlust seiner Koagulabilität seine präzipitinogene Eigenschaft nicht ein.

Pick & Obermayer haben ebenfalls die gleiche Beobachtung gemacht. Ein gekochtes (nicht koaguliertes) Serum vermochte trotz Verlust der Koagulierbarkeit die Niederschlagsbildung im frischen Serum zu hindern. Diese Autoren nehmen an, daß besondere hemmende Substanzen als Ursache dieser Hemmung anzusehen seien. In einem späteren Kapitel werden wir bei Besprechung des Hemmungsphänomens durch das Präzipitoid des Serums, diese Erklärung noch zu diskutieren haben. W. A. Schmidt hat die hemmende Eigenschaft des auf 100° erhitzten Serums nicht ermitteln können. Die Fällung des nativen Serums wurde weder verzögert, noch wird hierdurch die Niederschlagsmenge verringert.

Porges[81] hat in seinen Studien „über Bakterienagglutination und Ausflockungserscheinungen der Kolloide" versucht, die Wirkungsweise der Agglutinine mit der eines fällenden Kolloides vollständig zu identifizieren und lehnt die von Eisenberg & Volk für das Agglutinogen (Agglutinin) aufgestellte Vorstellung eines komplexen Baues ab. Nach Porges haben die von Eisenberg & Volk, Kraus & Joachim beobachteten Hemmungen durch Präzipitoide ihren Grund einerseits in hemmenden Substanzen, welche erst beim Erhitzen entstehen (Nuklein), andererseits in physikalisch-chemischen Zustandsänderungen des ausflockenden Agens.

Die hier entwickelte Auffassung über den komplexen Bau der präzipitinogenen Substanz und über den Abbau derselben in Präzipitoid wird nicht allgemein geteilt. Die Tatsache jedoch, daß das Präzipitinogen künstlich in seiner Koagulabilität abgeschwächt und zerstört werden kann, ohne an seinen antigenen Fähigkeiten Verluste zu erleiden, wird wohl allgemein anerkannt.

Durch die interessanten Untersuchungen von Obermayer & Pick konnte gezeigt werden, daß unter Einfluß von physikalischen und chemischen Agentien das Präzipitinogen wohl seine antigene Eigenschaft beibehalten, jedoch seine originäre und konstitutive Zustandsspezifizität verändern kann.

Ueber originäre und konstitutive Spezifizität des Präzipitinogens *).

Obermayer & Pick haben festgestellt, daß ein erhitztes, nicht koaguliertes Rinderserum im Organismus ein Präzipitin hervorruft, welches vorwiegend auf das gekochte Rinderserum wirkt, dann in geringerem Maße auf Sera, die bei 60—90° verschieden lang erhitzt wurden, dagegen gar nicht auf ein genuines unverändertes Präzipitinogen. Erst im Verlaufe einer längeren Immunisierung wirkt ein derartiges Präzipitinogen auch auf das native Serum. Ein auf 70° durch $^1/_2$ Stunde (bei leicht alkalischer Reaktion) erwärmtes Serum hat ein Präzipitin ausgelöst, welches auf das 70° erwärmte, gekochtes und normales Serum gleichmäßig wirkt. W. A. Schmidt konnte diese Angabe bestätigen. Fornet & Müller sowie Schmidt erhielten mit erhitztem Muskeleiweiß sogenannte Hitzepräzipitine. Schmidt gewann mit einem erhitzten und mit Natronlauge verdünnten Eiweiß ein Hitze-Alkali-Präzipitin.

Die Untersuchungen von Moro, Müller haben gezeigt, daß gekochte Milch auch auf Laktoserum, welches mit roher Milch erzeugt

*) Siehe auch dieses Handb., E. P. Pick, Bd. 1, S. 704.

wurde, reagiert. Die gekochte Milch erzeugt demgemäß ein Laktoserum, welches nicht bloß auf gekochte, sondern auch auf rohe Milch reagiert (Schütze).

Von der Erwägung ausgehend, daß durch Erhitzen des Eiweißes die Gesamtstruktur chemisch merklich nicht verändert werden dürfte, gingen Obermayer & Pick daran, Denaturierungsmethoden anzuwenden, welche nähere Anhaltspunkte für bestimmte Aenderungen der Konfiguration bieten könnten. Sie ließen Alkali, Säure, Formaldehyd, Toluol auf Eiweiß einwirken und fanden, daß ein derartiges Präzipitinogen wie das Koktopräzipitinogen im Organismus Präzipitine hervorruft, die zwar artspezifisch sind, überdies aber eine konstitutive Spezifizität so wie die Koktopräzipitine erlangt haben. Durch tryptisch gewonnene biuretfreie Spaltprodukte des Rinderserums erhielten Obermayer & Pick ein Präzipitin, welches nur auf die Trypsinspaltprodukte des Rinderserums einwirkt und nicht auf solche des Pferdeserums. Auch der oxydative Abbau der Eiweißkörper vermag die originäre Spezifizität nicht aufzuheben. Wurde Rinderglobulin mit Kaliumpermanganat bei Zimmertemperatur oxydiert, so verliert es rasch die Eigenschaft, mit dem Präzipitin zu reagieren. Wird mit diesem Produkt ein Tier behandelt, so bekommt man ein Immunserum, das vorwiegend auf das Permanganatpräparat seine Wirkung entfaltet, in geringerem Maße aber auf das normale Globulin oder Rinderserum einwirkt. In weiterer Verfolgung dieses Problems haben Obermayer & Pick durch Jodierung, Nitrierung und Diazotierung das Eiweißmolekül zu verändern gesucht. Es stellte sich hierbei heraus, daß beispielsweise Jodrindereiweiß im Kaninchen ein Präzipitin hervorruft, welches die Eigenschaft hat, nicht allein auf Jodrindereiweiß, sondern mit allen Jodeiweißkörpern der Säugetiere, der Vögel, ja sogar mit pflanzlichem Jodeiweiß (Edestin, Kleber) unter Niederschlagsbildung zu reagieren. H. Freund findet bei der Nachprüfung der Arbeit von Obermayer & Pick, daß durch jodiertes Eiweiß jodspezifische Präzipitine entstehen. Mit Jodrindereiweiß sind auch artspezifische Präzipitine entstanden, während Jodeiereiweiß artspezifische Präzipitine nicht hervorgerufen hat. Das nitrierte Rindereiweiß hat seine Artspezifizität verloren und reagiert überhaupt nur auf Nitroeiweiß.

Diese Versuche bieten, wie bereits angeführt wurde, einen Einblick in die Beziehungen des Präzipitinogens zur chemischen Konfiguration des Eiweißmoleküls. Nach Obermayer & Pick kann die originäre Spezifizität des Präzipitinogens (Artspezifizität) erhalten bleiben und daneben noch eine, die sogenannte konstitutive auftreten oder es verschwindet die originäre Artspezifizität des Präzipitinogens vollständig und es bleibt nur die konstitutive zurück.

Präzipitine.

Nach parenteraler Einverleibung der Präzipitinogene in den Organismus entstehen spezifische Antikörper, welche, so wie alle anderen, im Blutserum nachweisbar sind. Diese Antikörper, Präzipitine genannt, haben die Eigenschaft, mit dem bestimmten Antigen (Präzipitinogen) unter Niederschlagsbildung zu reagieren.

Präzipitine, gewonnen mit bakteriellem Präzipitinogen, werden als Bakterienpräzipitine, mit tierischen Antigen als Zoo- und mit pflanzlichem als Phytopräzipitine bezeichnet.

Normalpräzipitine.

Analog den Antitoxinen, Antihämotoxinen etc., welche schon physiologischerweise im Organismus produziert werden und im Blute vorkommen, lassen sich im Serum gesunder Menschen und Tiere Präzipitine nachweisen. Bail & Weil[82] konnten in Bakterienextrakten durch normales Rinderserum Ausflockung beobachten. Hocke[83] konnte dann zeigen, daß auch anderen Seris, wie Pferde-, Schweine-, Schafserum, solche Eigenschaften zukommen. Allerdings waren diese Präzipitine nicht spezifisch, insoferne nach Fällung mit Choleraextrakt das Serum auch mit Typhusextrakten nicht mehr reagierte. Auffallend weiter ist noch die Tatsache, daß in den Seren von Mensch, Kaninchen, Meerschweinchen, Ratten, diese Körper nicht vorhanden waren. v. Eisler[84] hat weder in Bouillonfiltraten noch Filtraten aus wässerigen Agarextrakten selbst nach Einengung derselben die Befunde von Hocke erheben können. Noris (l. c.) erhielt in Bouillonfiltraten weder mit normalem Kaninchen- noch Rinderserum Fällungen. Bail & Hocke[85] erhielten ebenfalls mit Bouillonfiltraten negative Resultate, nur mit Agarextrakten haben sie positive Resultate zu verzeichnen.

Man findet vielfach, daß im frischen Serum gesunder Menschen und Tiere nach einer gewissen Zeit bei 37° Präzipitate auftreten, die von denjenigen durch Mischen der Sera entstandenen nicht zu unterscheiden sind. Unter Berücksichtigung dieses Umstandes ließ sich einwandfrei nachweisen, daß Taubenserum mit Hühnerserum 1, nicht mit Hühnerserum 2, nicht mit Kaninchen-, Meerschweinchen-, Ziegen-, Hundeserum Niederschläge gab. Normales Ziegenserum gab mit Kaninchen-, Hundeserum nach 2 Stunden bei 37° einen Niederschlag, nicht mit Meerschweinchen-, Hühnerserum. Man sieht daraus, daß normale Sera bestimmter Tierarten mit solchen anderer Tierarten Niederschläge bilden (Kraus).

In der Arbeit „Zur Theorie der Agglutination" habe ich Versuche angeführt, aus welchen hervorgeht, daß normales Serum bestimmter Tierarten auch mit Ricinlösungen Niederschläge gibt. Eine gleiche Beobachtung führt Jacoby an. Hellin[87], Landsteiner & Raubitschek[88], v. Eisler & v. Portheim[89] beschreiben gleichfalls Niederschläge bei Mischungen von Normalserum und Pflanzenextrakten. In jüngster Zeit hat sich Wilenko (l. c.) mit dieser Niederschlagsbildung beschäftigt und bestätigt die obigen Angaben.

In einer in Metschnikoffs Laboratorium ausgeführten Arbeit konnte ich und Levaditi[86] zeigen, daß aus normalen Organen gesunder Tiere sich mit Kochsalzlösung Substanzen extrahieren lassen, die mit Eiereiweiß oder Ziegenserum Niederschläge erzeugen. Das Serum solcher Tiere war nicht imstande, fällend zu wirken. Cantacuzène[86a] hat in der Milz, Mesenterialdrüsen, Knochenmark ebenfalls nichtspezifische Präzipitine nachgewiesen.

Wir müssen nach alledem annehmen, daß wahrscheinlich auch unter physiologischen Bedingungen Präzipitine teils frei, teils in den Organen nachzuweisen sein dürften.

Nach unseren Versuchen und solchen, die Ascoli[90] anführt, ist anzunehmen, daß im normalen Serum nicht ein einziges Präzipitin, sondern eine ganze Reihe von Präzipitinen vorhanden sein dürften. In Analogie mit den anderen Antikörpern (Agglutininen, Ambozeptoren usw.) ist es wahrscheinlich, daß die einzelnen Präzipitine ebenso spezifisch sind, wie die künstlich erzeugten Präzipitine.

Gewinnung der Präzipitine.

Neben den unter normalen Verhältnissen im Blute vorkommenden Präzipitinen und solchen, die im kranken Organismus entstehen, kennen wir noch die nach Einverleibung der Präzipitinogene künstlich erzeugten Präzipitine.

Die Vorbehandlung*) des Organismus mit Präzipitinogen ist die notwendige Voraussetzung zur Erzeugung künstlicher Präzipitine, da dieselben, wie alle gekannten Antikörper, nur Produkte des Organismus sind. Nicht jede Tierart produziert Präzipitin. So wissen wir durch v. Dungern (l. c.), daß Kaltblüter kein Präzipitin bilden sollen. Oktopoden (Eledone canicula), Gastropoden (Aplysia depotans) und Haifische (Scyllium canicula) haben auf Injektion von Majaplasma kein Präzipitin geliefert. Es wäre aber wohl möglich, daß diese Tiere auf Serum einer weniger verwandten Tierart Präzipitin bilden könnten. Noguchi gelang es, Agglutinine und Präzipitine auch bei Kaltblütern zu erzeugen.

Am besten eignen sich nach Uhlenhuth Kaninchen, dagegen sind Hühner, Hunde und Meerschweinchen schlechte Präzipitinbildner. Daß auch beim Menschen nach Injektion von Pferdeserum Präzipitine entstehen können, wurde von Hamburger & Moro[91] u. a. gezeigt.

Zur Behandlung mit tierischem Präzipitinogen empfiehlt es sich, eine Tierart zu wählen, welche mit derjenigen, von welcher das Antigen herrührt, wenig verwandt ist. Uhlenhuth gelang es trotzdem, Tauben mit Hühnereiweiß, Kaninchen mit Hasenblut, Affen (Cercopithecus fuliginosus, Macacus rhesus) mit Menschenblut vorzubehandeln und Präzipitine zu gewinnen. Schafe mit Ziegenserum vorbehandelt, liefern kein Präzipitin (Schur).

Nach den bekannten Versuchen von Ehrlich & Morgenroth war zu erwarten, daß auch unter entsprechenden Versuchsbedingungen Isopräzipitine erzeugt werden dürften. Schütze teilt mit, daß er von 32 mit Kaninchenserum vorbehandelten Kaninchen nur bei 2 Tieren Isopräzipitine erhielt. Obermayer & Pick konnten mit einem aus Kaninchenserum gewonnenen Xantoprotein bei Kaninchen ein Präzipitin erhalten, welches auch mit dem zur Vorbehandlung verwendeten Kaninchenxanthoprotein reagierte. Centanni[92] will sogar Autopräzipitine nachgewiesen haben. Auch bei pathologischen Zuständen sind nach Centanni Autopräzipitine im Serum zu finden. Centanni hat im Serum bei Schafen, welche an einer Distomumerkrankung gelitten haben, Präzipitine für Leberextrakte nachweisen können. Die Autopräzipitine sind nach Centanni Reaktionsprodukte der Organismen auf die eigenen Organzellen, und können so wie die immunisatorisch

*) Einzelheiten der Immunisierung Uhlenhuth.

erzeugten art- und organspezifisch sein. Nach Ascoli[93] sollen auch im Serum gesunder Menschen und Tiere Autopräzipitine vorkommen. Uhlenhuth gelang es, weder Auto- noch Isopräzipitine zu erzeugen.

Die parenterale Einverleibung (subkutan, intraperitoneal, intravenös) der Präzipitinogene ist die beste Art, um Präzipitin zu gewinnen. Bei stomachaler Applikation wird zumeist das Präzipitinogen durch peptische und tryptische Verdauung zerstört. Diese Frage, die auch physiologisches Interesse beansprucht, war vielfach Gegenstand der Bearbeitung. Der Standpunkt, daß auf stomachalem Weg eingebrachtes Präzipitinogen nur unter besonderen Umständen in die Zirkulation gelangt, wird jetzt allgemein angenommen. Diese Tatsache ist, physiologisch betrachtet, bemerkenswert. Wie Oppenheimer (l. c.) hervorhebt, haben wir dadurch eine bisher unberücksichtigte Funktion der Verdauungsfermente kennen gelernt, die Eiweißkörper der Nahrung zu entdifferenzieren. Aber unter bestimmten Versuchsbedingungen läßt sich im Experiment trotzdem eine Ausnahme statuieren. Ascoli, Uhlenhuth konnten nachweisen, daß nach Ueberfütterung von Kaninchen mit Hühnereiweiß doch Präzipitin entsteht. Hamburger[94] gelang es nicht, bei Kaninchen nach Fütterung mit Kuhmilch, von Dungern mit Majaplasma Präzipitine zu erzeugen. Cantacuzène[94a] führte mit der Sonde in den Magen von Kaninchen normales Pferdeserum ein, und es gelang, im Blutserum der Tiere Präzipitine nachzuweisen. Nach den Untersuchungen von Ganghofner & Langer[95] ergaben sich beim Neugeborenen andere Verhältnisse wie beim Erwachsenen. Die Autoren konnten feststellen, daß bei neugeborenen Hunden bis zum 6. Tage stomachal einverleibtes Hühnereiweiß- und Rinderserum im Blutserum dieser Tiere mittels Präzipitin nachweisbar ist. Auch bei neugeborenen Katzen, Kaninchen (3.—10. Lebenstag) ließ sich dasselbe Verhalten nachweisen. Bei älteren Tieren läßt sich das stomachal einverleibte Präzipitinogen nicht im Blut nachweisen, außer man überfüttert die Tiere. Nur mit Umgehung des Magens nach Injektion von Rinderserum in den Dünndarm konnte dasselbe im Blut gefunden werden. Bei rectaler Applikation des Präzipitinogens wird dasselbe nicht resorbiert (C. Sternberg). Nach Schädigung der Magenschleimhaut bei jungen Hunden wurde Präzipitinogen nicht zerstört und ließ sich im Blut wiederfinden.

Auch bei Menschen wurden namentlich mit Rücksicht auf ernährungsphysiologische Fragen Versuche über diesen Gegenstand angestellt.

M. Ascoli konnte in seinem eigenen Serum trotz $1^1/_2$ Monate langen Genusses von täglich 4 rohen Eiern kein Präzipitin finden. Die von Ascoli, Ascoli & Bonfanti[96] gemachte Angabe, daß per os eingeführtes Hühner-, Rindereiweiß sowohl im menschlichen als auch tierischen Blutserum nachweisbar sei, konnte von anderen Autoren (Hamburger & Sperk[97], v. Dungern [l. c.]) nicht bestätigt werden. Nur bei Neugeborenen wird das natürlich aufgenommene Eiweiß nicht entdifferenziert und läßt sich im Serum nachweisen. Moro konnte von 22 an Atrophie gestorbenen Säuglingen (Flaschenkinder) zweimal Präzipitine gegen Kuhmilch nachweisen. Auch Bauer erhebt im Blute eines atrophischen Kindes einen ähnlichen Befund. Kentzier konnte nur bei Magenstörungen im menschlichen Blut Kuhmilcheiweiß nachweisen.

Zur Gewinnung wirksamer Präzipitine*) ist neben der Tierart, der Art der Einverleibung des Präzipitinogens auch die Menge des einverleibten Präzipitinogens, die Dauer der Immunisierung, die zeitliche Aufeinanderfolge der Injektionen, der Zeitpunkt des Aderlasses von Wichtigkeit.

Für die Vorbehandlung der Tiere mit Präzipitinogen gibt es ebenso wie für die Immunisierung mit anderen Antigenen keine bestimmten Gesetze. Im allgemeinen wird mit steigenden Dosen in Abständen von 6—8 Tagen unter Berücksichtigung des Zustandes der Tiere injiziert.

Fornet[98] hat in letzter Zeit ein Verfahren angegeben, welches rasch zum Ziele führen soll und hochwertiges Präzipitin liefert. Man injiziert den Tieren das gesamte Injektionsmaterial peritoneal in kurzen Zwischenräumen, am besten an drei aufeinanderfolgenden Tagen. 9—12 Tage nach der dritten Injektion wird der Aderlaß gemacht. Bonhoff & Tsuzuki[99], Miessner & Trapp[100] und Wiedenmann[101] haben bei Nachprüfung die Angaben Fornets über „Schnellimmunisierung" bestätigt.

Die Bakterienpräzipitine werden sowohl mit Filtraten aus Bouillon oder Kochsalzagarextrakten als auch mit lebenden und abgetöteten Bakterien gewonnen. Es gelingt auch mit dem nach Pick oder Brieger dargestellten Präzipitinogen Präzipitin zu erzeugen. Als einfachste Methode empfiehlt sich die Vorbehandlung der Tiere mit bei 60° durch 1 Stunde abgetöteten Vollbakterien (Agar, Bouillon). Die Bildung von Präzipitin ist allerdings ebenso wie die der anderen Antikörper auch von der Individualität des Organismus abhängig.

Durch Vorbehandlung mit Serum**) erhält man Serumpräzitin, mit gewaschenen Blutkörperchen Erythropräzipitine (Leblanc, A. Klein[102], Leers[102a]). (Fleischsaft aus Muskeln wird nach neueren Untersuchungen wegen seiner Giftigkeit schlecht vertragen.) Uhlenhuth benutzt für die Herstellung der für die Fleischuntersuchung in Betracht kommenden Präzipitine fast ausschließlich Serum. Daß man mit den einzelnen Eiweißfraktionen des Serums, der Milch (Hamburger, Müller) Präzipitine gewinnen kann, wurde bereits erwähnt. Auch die Untersuchungen von Obermayer & Pick über die Zustandsänderung des Präzipitinogens und die derart gewonnenen Präzipitine wurden erörtert.

Mit Hilfe der elektiven Absättigung wollte man zu einer Reindarstellung gewisser Präzipitinogene (bzw. Präzipitine) gelangen. Die derart gewonnenen Präzipitine sollen mit den homologen, nicht aber mit den Extrakten anderer Organe derselben Tierart Präzipitine liefern. Weichardt, Liepmann gewannen auf diese Weise ein Präzipitin für Syncytialeiweiß. Forssner[104] erhielt Präzipitine, mittels welcher er Leber, Niere und Blutserum von Meerschweinchen unterscheiden konnte. Auch Grund konnte zu ähnlichen Resultaten gelangen wie Forssner. Mit derselben Methode gelang es H. Pfeiffer[105], hochwertige Präzipitine für Sperma zu erzeugen.

Mit Extrakten aus Faeces wurden spezifische Kotpräzipitine erzeugt, die mit Blutserum nicht reagieren, wie zuerst Brezina[106]

*) Nach Obermayer & Pick genügt 0,02 ccm Eiweiß, nach Sellus 0,004 ccm um Präzipitin zu erzeugen.

**) s. Uhlenhuth.

nachgewiesen hat und von Fürstenberg, Wilenko bestätigt werden konnte.

Daß man mit Linsenextrakten nach Uhlenhuth organspezifische aber nicht artspezifische Präzipitine für Linsen erhält, sei hier ebenfalls erwähnt.

Stryzowski[105a] gelang es beim Kaninchen nach Einverleibung von 2—4 Eiweißarten spezifische Präzipitine für alle diese Eiweißkörper zu gewinnen (polyvalentes Präzipitin).

Modica hat bei gleichzeitiger Behandlung von Kaninchen mit Menschen-, Pferde-, Hammelserum, Glycerin und Phosphor schon nach 8—10 Tagen höherwertige Präzipitine gewonnen, als wenn Serum allein injiziert worden wäre*).

Auch die von E. Pick und O. Schwarz[105b] mitgeteilten Versuche „über die Beeinflussung der Antigenwirkung durch Lecithin und Organlipoide und deren Beteiligung am Immunisierungsprozeß" müssen hier Erwähnung finden.

Bildungsstätte der Präzipitine.

Das in den Organismus einverleibte Präzipitinogen verhält sich analog den anderen Antigenen, indem es zunächst eine Zeitlang im Blutserum kreist, um dann zuerst langsam, dann vollständig aus der Blutbahn zu verschwinden. Das bakterielle Präzipitinogen verschwindet nach Untersuchungen von Russ[107] sehr rasch aus der Blutbahn. Hamburger & v. Reuss konnten zeigen, daß injiziertes Eiklar und Milch noch vier Tage nach der subkutanen Injektion im Blute der Kaninchen, allerdings nur in Spuren, zu finden sei. Serum konnte längere Zeit hindurch in der Zirkulation gefunden werden. Hintze konnte für Dottereiweiß ebenfalls ein rascheres Verschwinden nachweisen als bei Pferdeserum. Hamburger & Moro zeigten, daß der Nachweis in der Blutbahn von der Menge des injizierten Präzipitinogens abhängig sein dürfte. Neben der Menge dürfte noch die Art des Präzipitinogens (Abstammung) bezüglich der Dauer des Nachweises des Präzipitinogens in der Blutbahn maßgebend sein. Die präzipitinogene Substanz des Pferdeserums konnten Hamburger & Moro längere Zeit unverändert in der Blutbahn nachweisen, im Gegensatze zu Versuchen v. Dungerns, wonach das Präzipitinogen des Maja squinido aus dem Blut des Kaninchens nach 5 Tagen verschwunden war. Hamburger & Moro konnten auch bei Menschen mehrere Tage nach der Injektion des Pferdeserums dasselbe im Blute finden.

Ueber das weitere Schicksal des Präzipitinogens im Organismus wissen wir bisher nichts Bestimmtes. Die Untersuchungen von M. Ascoli, die Hamburger bestätigen konnte, zeigen, daß das Präzipitinogen auch die Nieren passiert und im Harne nachweisbar ist.

Die meisten Autoren (Ascoli, v. Dungern, Wassermann, Uhlenhuth) versuchen es mit Hilfe der Seitenkettentheorie Ehrlichs, die Entstehung des Präzipitins durch Verankerung des Präzipitinogens an bestimmte Rezeptoren der Organe und Ueberproduktion derselben zu erklären.

Nach den Versuchsresultaten von Kraus und Levaditi wären es die Leukocyten, die das Präzipitinogen aufnehmen und auch Präzi-

*) Analoge Versuche liegen für die Agglutinine von E. P. Pick vor.

pitin bilden. Es gelang bei Kaninchen, welchen Pferdeserum intraperitoneal einverleibt wurde, nach einer bestimmten Zeit im leukocytenhaltigen Netz, spezifisches Präzipitin nachzuweisen. Zur selben Zeit konnte weder im Blutserum noch in anderen Organen dieser Tiere spezifisches Präzipitin nachgewiesen werden. Nachdem noch zahlreiche Kontrollversuche zeigten, daß im normalen Netz für Pferdeserum kein Präzipitin nachzuweisen war, dieses auch keine oder sehr spärliche Leukocyten enthielt, war der Schluß berechtigt, daß die Leukocyten der injizierten Tiere Präzipitin produzieren. Durch diese Versuche sind auch die Resultate v. Dungerns und Römers über lokale Antikörperbildung in ein anderes Licht gesetzt. Danach ist auch wahrscheinlich, daß auch hier die Leukocyten die Bildungsstätte der Antikörper sein könnten. Bei Fortsetzung dieser Versuche konnten Kraus & Schiffmann[108] weiter ermitteln, daß die Bildungsstätte, je nach der Art der Einverleibung des Antigens verschieden sein dürfte. Nach peritonealer Injektion von Eiweiß läßt sich Präzipitin im Blutserum und im Extrakt des Netzes nachweisen, nach subkutaner oder intravenöser Injektion nur in der Blutbahn. Hiermit dürfte man zu der Annahme gelangen, daß die Präzipitine in der Blutbahn wahrscheinlich von den Endothelien der Blutgefäße gebildet werden. Nach Cantacuzène & Jonescu-Mihaiscu[109] sind die leukocytenhaltigen Organe als Bildungsstätte anzusehen. Die Autoren schreiben den mononukleären Leukocyten die Rolle der Bildung der Präzipitine zu.

Ueber das zeitliche Auftreten und über sonstiges Verhalten der Präzipitine in der Blutbahn liegen Versuche von Rostoski[110] und v. Dungern vor. Nach v. Dungern tritt nach Injektion der präzipitinogenen Substanz am 4. und 5. Tag das neugebildete Präzipitin im Blute auf; zwei Tage später, nachdem es im Blute nachweisbar ist, hat es die höchste Stärke erreicht, hält sich eine Zeitlang auf dieser Höhe der Konzentration, bis dann entweder ein plötzlicher oder langsamer Abfall erfolgt. Aehnliche Beobachtungen macht Rostoski in seiner Arbeit „Zur Kenntnis der Präzipitine". Bei bereits vorbehandelten Kaninchen konnte v. Dungern andere Verhältnisse beobachten. Wenn man Kaninchen, die schon Präzipitine im Blute haben, neuerlich intravenös mit Majaplasma injiziert, so erfolgt sofort ein rascher Abfall des Präzipitingehaltes, so daß eine halbe Stunde später entweder sehr wenig oder kein Präzipitin nachweisbar ist. Nach einigen Tagen tritt aber wieder im Blute Präzipitin auf, und zwar in viel höheren Werten als das Präzipitin vor der letzten Injektion. Analoge Verhältnisse haben bekanntlich Salomonsen & Madsen für die Antitoxinproduktion bei Pferden beschrieben.

Uebersicht über die gekannten Präzipitine.

I. Bakterienpräzipitine:

Typhus, Paratyphus, Cholera und andere Vibrionen, Coli, Pest (Kraus);
Rotz (Wladimiroff);
Dysenterie (Dopter);
Prodigiosus, Pyocyaneus, Proteus (Norris);
Kapselbakterien (v. Eisler & Porges);
Diphtherie, Pseudodiphtherie (Schwoner, v. Wassermann);

Milzbrand (Bail, A. Ascoli, Gruber & Futaki)
Tuberkelbacillen (Kitajima, Bonome, Ruppel);
Kokken: Streptokokken (Marmorek), Pneumokokken (Heyrovsky, Panichi), Meningokokken (Dopter).

II. Hefe (Schütze).

III. (Protozoenpräzipitine: Trypanosomen [M. Meyer]).

IV. Zoopräzipitine:

Serum (Tchistowitsch, Bordet);
Blutkörperchen (Leblanc, A. Klein, Leers);
Milch (Bordet);
Organe (Weichardt & Liepmann, Forssmann, Grund);
Sperma (H. Pfeiffer, Farnum);
Kot (Brezina, Brezina & Ranzi, Wilenko);
Harn (Landsteiner & v. Eisler);
Linsen (Uhlenhuth);
Nägel, Haare (Krusius);
Hühnereiweiß (Ehrlich, Myers, Uhlenhuth);
Schlangengifte (Hunter, Lamb.);
Tierische Parasiten: Echinokokken, Bothriocephalus, Taenia medican. (Fleig & Lisborne, Welsh & Chapmann, Isaak & van de Velden, Flekseder & Steyskal);
Honig (v. Riegler, Langer, Schütze).

V. Phytopräzipitine:

Getreide (Kowarski, Magnus);
Ricin (Jacoby), Abrin (Hausmann), Crotin (Bashford);
Leguminosen (Bertarelli, Kowarski, Gasis);
Opium, Althaea offic., Digitalis purp. (Lusini);
Mohn, Hanf, Mandeln (Uhlenhuth & Jung, Relander);
Kokossamen (Uhlenhuth & Haendel);
Pilze, Trüffel, Champignon (Magnus & Friedenthal, Cataffini);
Pflanzliche Farbstoffe (de Angelis Giovanni);
Oele (Uhlenhuth, Londini).

Natur der Präzipitine.

Die Präzipitine lassen sich, wie alle Antikörper, im Blutserum nachweisen. Mittels der bekannten Fällungsmethoden von Tizzoni, Belfanti, Brieger und Ehrlich lassen sich Präzipitine ebenso konzentrieren, wie beispielsweise Antitoxine. Nach den Untersuchungen von E. Pick, P. Müller, Michaelis & Oppenheimer, Jacoby, Umber[111], Landsteiner & Calvo[112] kann man mittels fraktionierter Fällung mit gesättigter Ammonsulfatlösung ($^1/_3$ Sättigung) nach dem Verfahren von Hofmeister die Präzipitine aussalzen. Auch die neueren Konzentrationsmethoden von Brunner & Pincus, S. Fränkel sind gleichfalls geeignet, das Präzipitin aus dem genuinen Serum in konzentrierter Form darzustellen. (Die Sera, vor Licht im Kühlen aufbewahrt, behalten in flüssiger Form lange ihre Wirksamkeit; Ottolenghi setzt zur Konservierung 4 Proz. Aether zu; siehe Uhlenhuth).

Alle Angaben stimmen darüber überein, daß die Präzipitine im Globulin (Euglobulin) quantitativ enthalten sind, dessen Denaturierung

auch eine Zerstörung des Präzipitins zur Folge hat. Nach MARKUS, LEVY, MOLL kommt es bei Kaninchen nach Injektion von Pferdeserum zu einer Globulinvermehrung, die Hand in Hand geht mit dem Auftreten der Präzipitine. Ob die entstandenen Globuline andere sind als die normal vorhandenen und ob diese gerade die Träger des Präzipitins sind, läßt sich in Ermangelung einer Differenzierung derselben derzeit gar nicht entscheiden.

Die weiteren Bemühungen, Präzipitine eiweißfrei zu gewinnen, haben nur negative Resultate zu verzeichnen. Es hat sich immer wieder gezeigt, das alle Eingriffe, welche das Eiweiß schädigen, auch die Präzipitine schädigen. Alkalien, Säuren, Harnstoff, Formaldehyd haben nach PICK einen schädigenden Einfluß auf Bakterienpräzipitine. Pepsinsalzsäure, Trypsin zerstört Präzipitin (PICK, MICHAELIS & (OPPENHEIMER). Die Angaben der Autoren über die Resistenz verschiedener Präzipitine gegenüber der Pepsin- und Trypsineinwirkung lauten verschieden (LEBLANC, ROSTOSKI).

Wichtig ist noch, zu erwähnen, daß nach BELJAEFF[113] die physikalischen Konstanten des präzipitinhaltigen Serums sich in denjenigen Grenzen bewegen, welche für die normalen Sera charakteristisch sind.

BAIL[114] hat die komplexe Natur der Präzipitine durch Aktivierung mit frischem Serum beweisen wollen. Weder MICHAELIS, EISENBERG, WELSCH & CHAPMANN, noch mir, ist die Aktivierung der Präzipitine gelungen.

Ueber Beeinflussung der Präzipitine durch physikalisch-chemische Faktoren.

TSCHISTOWITSCH, MYERS haben gezeigt, daß höhere Temperaturen Serum- und Eiweißpräzipitine, PICK, daß sie Bakterienpräzipitine schädigen. Diese Autoren nehmen an, daß Temperaturen über 60° die Präzipitine vollständig zerstören. GRAHAM-SMITH hat bei seinen systematischen Untersuchungen gefunden, daß 5 Minuten langes Erhitzen bei 68° das Präzipitin völlig vernichtet. PICK führt diese Tatsache auch als Argument gegen die Indentität der Präzipitine mit den Bakterienagglutininen an, da diese bei 60° nicht zerstört werden sollen.

In der Arbeit „Weitere Untersuchungen über spezifische Niederschläge“ (KRAUS & v. PIRQUET) konnten wir sehen, daß das Bakterienpräzipitin bei 50—60° bloß die fällenden Eigenschaften verliert. Bei der Analyse dieser Tatsache, auf die wir bei der Besprechung der spezifischen Hemmung noch zurückkommen werden, wurde festgestellt, daß die Bakterienpräzipitine nach Verlust der Koagulierbarkeit noch eine weitere Funktion beibehalten, nämlich die der Bindung des Präzipitinogens. Diese von uns zuerst ermittelte Tatsache wurde auch für die anderen Präzipitine als zutreffend gefunden. Die modifizierten Präzipitine werden, sowie die analog veränderten Präzipitinogene als Präzipitoïde bezeichnet.

MÜLLER fand, daß Laktoserum, EISENBERG, OPPENHEIMER & MICHAELIS, daß Serum- und Eiweißpräzipitin sich ebenso verhalten wie Bakterienpräzipitine. Durch höhere Temperaturen (70°) verliert das Laktoserum oder Serumpräzipitin bloß seine präzipitierende Eigenschaft, behält aber die spezifisch bindende Eigenschaft. Aber auch Temperaturen über 70° müssen die präzipitierende Fähigkeit

des Körpers unter bestimmten Bedingungen nicht beeinträchtigen (Eisenberg). Buchner hat bereits nachgewiesen, daß Fermente, Toxine und Alexine, wenn sie bei niederen Temperaturen getrocknet wurden, hohe Temperaturen (100°) schadlos vertragen. Eisenberg fand, daß die getrockneten, durch Fällung mit Ammonsulfat gewonnenen Präzipitine ein halbstündiges Erhitzen auf 100° vertragen, während 130—135° zerstörend gewirkt haben. Diese Erscheinung geht Hand in Hand mit der Denaturierung der Eiweißkörper.

Es wurde schon darauf hingewiesen, daß eine Aenderung des Eiweißkörpers eine Aenderung oder Zerstörung des Präzipitins bedinge. Ob der besprochene biologische Abbau des Präzipitins (60 bis 70°) mit irgendeiner Aenderung der Eiweißkörper (Globuline) einhergeht, ist derzeit nicht zu sagen, da keine diesbezüglichen Versuche vorliegen.

Ebenso wie auf andere Antikörper äußere Einflüsse schädigend einwirken, so läßt sich auch für die Präzipitine ein derartiger schädigender Einfluß nachweisen. Kraus & v. Pirquet konnten nachweisen, daß ein Bakterienpräzipitin schon bei Zimmertemperatur teilweise in Präzipitoïd umgewandelt wurde; später verliert das Präzipitin auch die Fähigkeit der Bindung. Dieser Abbau bedingt auch ein Zurückgehen des Wertes des Präzipitins.

W. A. Schmidt gibt an, daß ein auf 70° durch $^1/_2$ Stunde erhitztes (verdünntes) Präzipitin nicht mehr so rasch zu Flockenbildung führt, wie ein unerhitztes. Temperaturen von —190° schädigen Präzipitin nicht.

Außer thermischen Faktoren können chemische ebenfalls Veränderungen der Präzipitine bedingen. Fleischmann hat mit photodynamischen Stoffen (Eosin) Präzipitoïde erzeugt.

Gibt es Antipräzipitine?

Es bliebe noch die Frage zu erörtern, ob Präzipitine auch noch antigene Eigenschaften besitzen und im Organismus Antipräzipitine hervorrufen.

Kraus & Eisenberg[115] haben zunächst nachgewiesen, daß man mit Bakterienagglutininen (Typhusagglutinin) keine Antiagglutinine hervorrufen könne. Nachdem durch die Untersuchungen von Kraus & v. Pirquet, Kraus & Joachim die innigen Beziehungen der Bakterienagglutinine und Bakterienpräzipitine erwiesen sind, dürften die von uns für Bakterienagglutinine ermittelten Tatsachen auch für Bakterienpräzipitine Geltung haben. Danach kann wohl geschlossen werden, daß man mit Bakterienpräzipitinen kein Antipräzipitin im Organismus hervorrufen könne.

Ein positives Resultat konnte demgegenüber erhoben werden, wenn man zur Immunisierung der Kaninchen Laktopräzipitin (Ziegenserum) benützt (Kraus & Eisenberg) oder Tiere mit Serumpräzipitin von anderen Tierarten gewonnen, vorbehandelt (Schütze).

Versuch von Kraus & Eisenberg:

0,2 ccm Laktoserum (Kaninchenserum) + 2,0, 1,0, 0,5, 0,3, 0,2 ccm Antilaktoserum (Ziege), 4 Std. bei 37° + 2 ccm 10-fach verdünnte Ziegenmilch, kein Niederschlag.

Kontrollen:

0,2 ccm Laktoserum (Kaninchenserum) + 2 ccm 10-fach verdünnte Ziegenmilch, nach 1 Std., Niederschlag.

0,2 ccm Laktoserum (Kaninchenserum) + 2 ccm normales Ziegenserum, nach 4 Std. 37° + 2 ccm 20-fach verdünnte Ziegenmilch Niederschlag.

Daraus geht hervor, daß nach Vorbehandlung mit Laktoserum (Laktopräzipitin) und Serumpräzipitin bei bestimmten Tieren Sera gewonnen werden, welchen die Fähigkeit zukommt, die Wirkung des Milch- oder Serumpräzipitins aufzuheben. Wir haben diese hemmende Wirkung seinerzeit auf Antipräzipitine zurückgeführt, müssen aber heute diese Vorstellung fallen lassen. Vielmehr glauben wir auf Grund der Versuche von Hamburger & Dehne[116], Sacharoff[117], Kraus & Pribram[118], v. Eisler & Tsuru[119] die Erscheinung folgendermaßen erklären zu können. Durch Vorbehandlung der Ziege mit präzipitinhaltigem Kaninchenserum entstehen Serumpräzipitine für Kaninchenserum. Dieses Präzipitin fällt Präzipitinogen des Kaninchenserums und gleichzeitig, wie wir aus den eben angeführten Arbeiten wissen, auch die im Serum befindlichen Antikörper. Das Laktopräzipitin wird mitgefällt und kann daher bei nachträglichem Zusatz von Präzipitinogen (Milch) keinen Niederschlag bilden.

Ausführung der Reaktion.

Wie bei allen Immunitätsreaktionen nur durch die Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse eine biologische Analyse der Phänomene ermöglicht und die praktische Verwertung derselben begründet wurde, hat sich auch hier dieses Prinzip von der größten Tragweite erwiesen.

Bei der Ausführung der Bakterienpräzipitation geht man so vor, daß man bestimmte Mengen des Filtrates mit verschiedenen Mengen des Immunserums mischt, z. B. 5 ccm Filtrat + 1,0, 0,5, 0,2 Serum und bis 24 Stunden bei 37° stehen läßt.

Für die Auswertung der Serumpräzipitine und die Ausführung der Reaktion sind verschiedene Methoden angegeben worden*).

Nach Wassermann und Schütze erfolgt die Auswertung der Präzipitine in der Weise, daß zu einer konstanten Menge Antigen 5 ccm def. Blutlösung (0,1 def. Blut + 5 Kochsalzlösung) abfallende Mengen Präzipitin zugesetzt werden. Die in 1 ccm enthaltene Präzipitinmenge ist die Präzipitineinheit.

Bei Uhlenhuths Auswertung bleibt die Präzipitinmenge konstant und die Antigenmenge ist abgestuft.

Nuttalls Methode beruht auf der Messung der Niederschläge mittels eines besonderen Apparates.

Der Physiologe Hamburger[120] gibt auch ein Verfahren an, um die Intensität der Niederschläge zahlenmäßig auszudrücken. Die trüben Flüssigkeiten werden in Trichterröhrchen, deren unten zugeschmolzener Hals in 100 gleiche Teile geteilt ist, welche zusammen 0,02 oder 0,04 ccm fassen, zentrifugiert. Die Ablesung erfolgt

*) Auf die genaue Ausführung der Reaktion (insbesondere zu forensischen Zwecken) wird hier nicht Rücksicht genommen, es sollen nur die allgemeinen Gesichtspunkte entwickelt werden (s. Uhlenhuth).

mittels Lupe. Das Zentrifugieren wird bis zum konstanten Volumen fortgesetzt.

Eine ähnliche volumetrische Methode ist früher bereits von Schur angegeben worden. Schur (s. Kraus in Kolle-Wassermanns Handb., 1. Aufl., S. 631, Bd. 4) verwendete kleine, ca. 3 ccm fassende Glasröhrchen, die an ihrem unteren Ende in einen schmalen zylinderförmigen in $^1/_{10}$ ccm geteilten Ansatz ausliefen. Nach 24 Stunden wurden die Röhrchen zentrifugiert und der Niederschlag abgelesen.

Zur Wahrnehmung geringer Trübungen hat Dürck einen besonderen Apparat konstruiert, bei welchem die Eprouvetten in Cedernöl beobachtet werden.

Um mit kleinen Mengen der Reagentien auskommen zu können, hat Hauser[121] die sogenannte Kapillarmethode ausgearbeitet, welche nach Carnwath[122] für diese Zwecke gute Dienste leistet.

Der Mischungsmethode zieht M. Ascoli die von ihm angegebene Schicht- oder Ringprobe vor, mittels welcher noch feinste Trübungen beobachtet werden können. Fornet findet bei Nachprüfung der Angaben Ascolis diese Methode der Mischungsmethode überlegen. Diese Reaktion wird nach Fornet in 6 cm langen, 0,4—0,5 cm breiten Röhrchen vorgenommen und zweckmäßig in einem mit einem schwarzen Tuchstreifen abgeblendeten Holzgestell beobachtet. Mittels Kapillarpipetten füllt man 6—10 Tropfen unverdünnten Immunserums und läßt dann das Antigen tropfenweise in das stark geneigte Gläschen hinablaufen, so daß eine scharfe Trennungsfläche zwischen Immunserum und Antigen entsteht. Die Reaktion ist positiv, wenn eine grauweiße Scheibe und Ring entstanden ist.

Amiradzibi & Kaczynski[123] haben bei der Nachprüfung der Angaben von Gaehtgens über die Beziehungen der Bakterienagglutinine zu den Präzipitinen zunächst die Schichtprobe auf ihre Brauchbarkeit untersucht. Die Ergebnisse dieser Autoren zeigen, daß bei Verwendung hochwertiger Antisera die Schichtprobe der Mischprobe überlegen ist. Die Schichtprobe hat bei Benützung minderwertiger Sera versagt. Es entstanden z. B. Ringe sofort nach der Schichtung, wenn Typhusimmunserum mit Typhusextrakt oder Dysenterieextrakt gemischt wurde, und nur Mischversuche ergaben spezifische Fällungen.

Amiradzibi & Kaczynski gelangen zu dem Schlusse, daß die Ringprobe mit niederwertigem Bakterienpräzipitin unspezifische Fällungen gibt, daher nicht zu verwenden ist. Wir werden noch sehen, daß die Resultate, welche Fornet & Schereschewsky, Fornet, Gaehtgens mit dieser Probe zum Nachweise der Syphilis, des Typhus abd. gewonnen haben, von verschiedenen Seiten angezweifelt werden.

Ueber Präzipitate.

Wenn auch das Prinzip der Reaktion in dem spezifischen Bindungsvermögen der beiden reagierenden Substanzen gelegen ist, muß doch die Niederschlagsbildung genau so wie die Agglutination als das objektiv Charakteristische dieser Reaktionen angesehen werden. Die spezifische Niederschlagsbildung ist, wie wir bereits wissen, an die Koagulierbarkeit des Präzipitins und Präzipitinogens geknüpft. Die Präzipitation tritt unter gewissen quantitativen Bedingungen beim Zusammentreffen der aktiven Körper mehr oder weniger rasch auf.

Die Niederschläge, die in Bakterienfiltraten entstehen, treten nicht sofort auf, sondern sind nach ein bis mehreren Stunden sichtbar. Pick beobachtete mit Bakterienpräzipitin bereits nach $^1/_2$ Stunde massige Niederschläge. Dieses rasche Auftreten der Niederschläge dürfte in diesen Fällen von der Konzentration des Präzipitinogens abhängen.

Daß das rasche Auftreten der Niederschläge auch mit der Stärke und der Avidität des Präzipitins zusammenhängen dürfte, dafür sprechen einzelne Beobachtungen, die diesbezüglich gemacht wurden.

Günstig auf das raschere Entstehen der Niederschläge wirken höhere Temperaturen (37°). v. Horn fand, daß mit steigender Temperatur die Flockenbildung beschleunigt wird. Bei Steigerung um etwa 10° verdoppelt sich die Reaktionsgeschwindigkeit.

Zum Ausdruck gelangt die Präzipitation zunächst durch Trübung der klaren Flüssigkeit und durch Flockenbildung. Sobald sich der Niederschlag abgesetzt hat, ist am Boden des Glases ein ziemlich kohärenter Niederschlag, die Flüssigkeit darüber ist vollständig klar. Bei mikroskopischer Betrachtung der Niederschläge sieht man amorphe Häufchen. Gewöhnlich ist die Reaktion nach 24 Stunden beendet, allerdings sahen wir (Kraus & Joachim) noch nach 24 Stunden Niederschläge auftreten.

Die Niederschläge, die beim Zusammentreffen des tierischen Präzipitinogens und Präzipitins entstehen, treten viel rascher auf als die eben besprochenen. Nach Mischen der beiden Reagentien kann man schon nach Minuten (bei Zimmertemperatur) das Entstehen von Trübungen und Niederschlägen beobachten. Sonst ist aber im Aussehen der Niederschläge kein Unterschied zu bemerken.

Außer durch Temperatur wird die Niederschlagsbildung durch chemische Faktoren beeinflußt.

Die neutrale und schwach alkalische Reaktion ist für das Zustandekommen des Präzipitates als günstig zu betrachten; doch erfolgt die Präzipitatbildung bei saurer Reaktion meist stärker und schneller.

Betreffs des Einflusses von Elektrolyten, Säuren und Alkalien auf die Bildung von Niederschlägen liegen Versuche von Rostoski vor, der zu folgenden Resultaten gelangt ist: Säurereaktion begünstigt die Präzipitinbildung, wenn sie durch eine organische Säure (Essigsäure) oder durch ein saures Salz (Mononatriumphosphat) herbeigeführt ist. Bei anorganischen Säuren (Salzsäure) ist zwar, so lange es sich um niedere Säuregrade handelt, auch ein besonders schneller und kräftiger Ausfall der Reaktion zu beobachten, doch genügen verhältnismäßig geringe Säuregrade schon, um die Präzipitinbildung zu verhindern.

Auch Salze haben einen bestimmenden Einfluß auf die Präzipitation. Daß Salze bei der Agglutination der Bakterien eine Rolle spielen, ist aus den Untersuchungen von Joos bekannt geworden. Die Arbeiten von Pick, Rostoski, Müller, Hamburger, Eisenberg, Alkan u. a. haben auf die Rolle der Salze für die Präzipitation hingewiesen. Rostoski hat festgestellt, daß die Präzipitatbildung bei Abwesenheit von Salzen nicht erfolgt, eine Tatsache, die auch für die Agglutination, wie zuerst Joos gezeigt hat, zu Recht besteht. Nach Friedberger (Centralbl. f. Bakt., 1907) sind Präzipitate gegenüber der Fäulnis sehr resistent.

Ueber die Natur der Niederschläge finden sich Angaben in den Arbeiten von E. P. Pick, Leblang, P. Th. Müller, v. Dungern.

Pick stellte Untersuchungen über die Niederschläge der Bakterienfiltrate an. Darüber besteht kein Zweifel, daß der Niederschlag Eiweißkörper enthält. Das hervorstechendste Merkmal der Niederschläge ist neben dem Fehlen einer Kohlehydratgruppe die Unlöslichkeit in Mineralsalzen, in Soda und die Widerstandsfähigkeit gegenüber verdauenden Fermenten (Pick). Eine Entscheidung über die Art der Eiweißkörper hat Pick nicht gebracht. Einzelne Eigenschaften des Niederschlages sprechen für Alkalialbuminate, andererseits spricht dagegen die schwere Löslichkeit in Soda sowie die Unverdaulichkeit durch Pepsin und Trypsin. Die große Resistenz des Niederschlags gegenüber den verdauenden Fermenten führt Pick zurück auf die präzipitinogene Substanz (Koagulin) und meint, daß bei der Koagulation eine Vereinigung der Bakterienkoaguline an jener Stelle des Serumkoagulins eintrete, die allein dem Angriff des Pepsins und Trypsins zugänglich ist. Eine Analogie für diese Annahme findet Pick in der Angabe von L. Schwarz. Nach Schwarz ist das Formaldehydeiweiß gegenüber Trypsin aus dem Grunde resistenter, weil Formaldehyd im Eiweißmolekül die Stelle des Angriffpunktes des Trypsins einnimmt.

Nach den Versuchen Picks kann man als sicher annehmen, daß das Eiweiß im Niederschlage vom Immunserum herrühre, da das verwendete Präzipitinogen fast eiweißfrei war.

Moll sagt, daß nur das Antiserum (Präzipitin) Eiweiß des Niederschlags liefert. Moll fällt mittels fraktionierter Ammonsulfatlösung das an Globulin gebundene Präzipitin aus, setzt es mit Präzipitinogen einer Albuminlösung zu. Das Präzipitat wird eiweißfrei gewaschen. Im Filtrat ließ sich Albumin quantitativ wieder nachweisen. Die Albuminlösung enthielt nur 0,0074 Eiweiß, im Niederschlag konnte aber 0,0724 g Eiweiß nachgewiesen werden. Demnach kann nach Moll das Eiweiß des Niederschlags nur vom Globulin, also vom Präzipitin, herrühren.

Welsh & Chapmann[124] zeigen, daß im Antigen, welches mit dem Präzipitin einen Niederschlag gab, chemisch Eiweiß überhaupt nicht nachweisbar war. Es konnte also das Eiweiß des Präzipitates nur aus dem Antiserum kommen. Sie fanden dann, daß 1 mg Hühnereiweiß bei Einwirkung auf 52 ccm Präzipitin eine Fällungsmenge von 25,1 mg ergab und trotzdem war noch gelöstes Antigen in der überstehenden klaren Flüssigkeit nachweisbar. Es ist kaum denkbar, meinen die Autoren, daß eine ausgefällte Menge von 25 mg aus nur 1 mg Antigen stammen kann. Durch Wägung der Präzipitate konnte man sehen, daß das Gewicht in direktem Verhältnis zu der Antiserummenge steht und unabhängig von der Antigenmenge ist.

Demgegenüber beteiligen sich nach Leblang Präzipitin und Präzipitinogen gleichmäßig an der Bildung des Niederschlags, so daß das Eiweiß von diesen beiden Körpern herrühre. Wie bereits angeführt wurde, nehmen v. Dungern & Cohnheim ebenfalls an, daß die Eiweißkörper des Niederschlags sowohl dem Präzipitin als auch dem Präzipitinogen angehören.

Müller findet nach Mischung von Milch und Laktoserum die Hauptmasse des Niederschlags aus Kasein bestehend. Jacoby meint,

daß im Niederschlag außer den spezifischen Substanzen (Präzipitinogen + Präzipitin) auch noch andere Körper mechanisch mitgerissen werden. Zum Teil ist diese Ansicht JACOBYS durch die früher angeführten Experimente von HAMBURGER & DEHNE, KRAUS & PRIBRAM gestützt. Daß Antigen und Antikörper verschiedener Art mitgefällt werden können, ist nach den früher angeführten Versuchen nicht zu bezweifeln. Jedoch lehren diese Versuche, daß die Mitfällung nicht als mechanisch aufzufassen ist, sondern aus einem organischen Zusammenhang der verschiedenen Antigene und Antikörper untereinander erklärt werden muß. FRANCESCHELLI[125a] findet im Niederschlag weniger Globulin als dem Globulingehalt des Präzipitins entspricht. Die Euglobulinfraktion wird nur teilweise gefällt.

Bei der Besprechung der Nomenklatur haben wir bereits dieser Streitfrage Rechnung getragen. Es ist klar, daß die Benennung der beiden Substanzen, ob man sie als präzipitierbar oder präzipitierend bezeichnet, von ihrem aktiven oder passiven Anteil an der Reaktion abhängt.

Nach den von PICK, MOLL, WELSH & CHAPMANN erbrachten Beweisen entstammt das Eiweiß des Niederschlags zum größten Teil vom Antiserum. Ob man nunmehr das Präzipitin als aktiven oder passiven Anteil ansehen soll, präzipitierend oder präzipitierbar bezeichnen soll, ist dadurch auch nicht entschieden worden. Es empfiehlt sich auch aus diesem Grunde, an der von uns vorgeschlagenen Nomenklatur festzuhalten.

Es erübrigt noch die Frage zu erörtern, ob auch im Organismus Präzipitate gebildet werden.

OBERMAYER & PICK, HAMBURGER konnten beim Immuntier noch zwei Stunden nach der Injektion von Eiweiß, dasselbe im Serum biologisch wiederfinden. Demgegenüber zeigt v. DUNGERN, daß sofort nach der Einspritzung von Präzipitinogen (Majaplasma) in das Immuntier der Präzipitingehalt rasch abfällt. Nach $^1/_2$ Stunde ist das Präzipitin fast gänzlich aus der Zirkulation geschwunden. Nach v. DUNGERN kommt es zur Bindung zwischen Antigen und Antikörpern, daher zur Abnahme des Präzipitins. Aus diesen Versuchen kann man aber nicht behaupten, daß es im Organismus zu einer Präzipitatbildung kommen dürfte.

Ueber das quantitative Verhalten der an der Reaktion beteiligten Körper.

Bei den nachgewiesenen engen Beziehungen zwischen Bakterienagglutination und Bakterienpräzipitation war es von besonderem Interesse, zu erfahren, ob die von EISENBERG & VOLK für die Bakterienagglutination ermittelten Bindungsgesetze auch für die Bakterienpräzipitation Geltung haben.

Durch das Studium des gegenseitigen Verhaltens der an der Reaktion beteiligten Körper ist zunächst mit Sicherheit festgestellt worden, daß Präzipitin und Präzipitinogen an der Reaktion quantitativ beteiligt sind. Die Frage, ob der Aufbrauch beider Körper ein restloser ist oder ob neben gebundenem Antigen und Antikörper freies

Präzipitin und Präzipitinogen übrig bleibt, ist nicht einheitlich entschieden.

Nach P. Th. Müller & v. Dungern werden die Körper bei der Reaktion restlos aufgebraucht, wogegen Eisenberg feststellen konnte, daß in der Flüssigkeit über dem Niederschlag noch beide Körper nebeneinander biologisch nachweisbar sind. Diese von Eisenberg zuerst ermittelte Tatsache konnten Michaelis & Fleischmann bestätigen.

Gerade die von Eisenberg, Michaelis & Fleischmann[125] gemachten Beobachtungen lassen vermuten, daß der Prozeß der Präzipitation nicht als ein rein chemischer aufzufassen, sondern vielmehr einer physikalischen Erklärungsweise zugänglich sein dürfte. Besondere Bindungsversuche haben dann noch weitere Anhaltspunkte für die physikalische Auffassung gebracht. Die für die Agglutination gefundenen Gesetze haben nach Eisenberg*) auch für die Präzipitation volle Gültigkeit, sie lauten:

1) Bei gleichbleibender Antigenmenge kann die adsorbierte Antikörpermenge verschieden sein.

2) Die Adsorptionsmenge des Antikörpers bei gleichbleibender Antigenmenge nimmt bis zu einem gewissen Grade zu und bleibt trotz zunehmender absoluter Werte unvollständig.

(Der Adsorptionskoëffizient besitzt innerhalb der erwähnten Grenze einen maximalen Wert, oberhalb desselben nimmt er mit steigender Präzipitinmenge ab und beträgt schließlich die Hälfte des Wertes.)

Einen weiteren Beweis für die Unvollständigkeit der Reaktion führt Michaelis an. Das Volumen der Reaktionsflüssigkeit hat einen Einfluß auf die Menge des Niederschlags und der Niederschlag ist in der Regel bei gleichen absoluten Mengen der reagierenden Substanz (schwaches Präzipitin) geringer als bei größerem Volumen der Lösungsflüssigkeit**).

Diese Bindungsverhältnisse machten es unmöglich, das Guldberg-Waagesche Massengesetz zur Erklärung heranzuziehen.

Arrhenius[126] hat auch aus den von Eisenberg & Volk gefundenen Bindungswerten für die Agglutination eine physikalische Auffassung abgeleitet und das Verteilungsgesetz für diesen Prozeß geltend gemacht. Nach Arrhenius müßte selbstverständlich auch die Präzipitation, da dieselben Bindungsgesetze Geltung haben wie für die Agglutination, physikalisch durch das Verteilungsgesetz erklärt werden. Biltz[127] konnte jedoch zeigen, daß die von Arrhenius berechneten Formeln, welche den Vorgang von der Löslichkeit der Körper abhängig machen, auch für die Adsorption der kolloidalen Körper geltend gemacht werden können.

Die Präzipitation als Kolloidreaktion.

Die Aufschlüsse, welche man über Kolloide, überhaupt über Ausflockungen, über die Mengenverhältnisse der einander ausflockenden Kolloide etc. durch die Arbeiten von Picton & Lindner,

*) s. auch Schur, Kolle-Wassermanns Handb., 1. Aufl., Bd. IV, S. 632.

**) Ausführliches darüber: Landsteiner, Beziehungen der Lipoide und Kolloide zur Immunitätslehre. Dieses Handbuch.

v. Lottermoser, Hardy, Biltz, Neisser & Friedemann[128], Bechold[129], Landsteiner & Jagic[130], Porges (l. c.), Zangger[131] gewonnen hat, haben weitgehende Analogien zwischen der Ausflockung der Kolloide einerseits und der Agglutination und Präzipitation andererseits aufgedeckt.

Eine besondere Stütze hat die Theorie durch den Nachweis erfahren, daß den Elektrolyten eine besondere Rolle bei der Präzipitation zuzuschreiben ist. Die Untersuchungen von Joos haben für die Agglutination die Bedeutung der Salze (Kochsalz) festgestellt. Friedberger konnte zeigen, daß eine große Anzahl von Salzen und anderen Substanzen das Kochsalz ersetzen können.

Es wurde auch bereits angeführt, daß Pick, Rostoski, Müller, Hamburger u. a. die hemmende und begünstigende Rolle der Salze beschrieben haben.

Berücksichtigt man, daß durch Versuche von Neisser & Friedemann eine kombinierte Wirkung von Elektrolyten und Kolloiden bewiesen wurde, so ist die Analogie mit den mitgeteilten Befunden vollständig hergestellt. Nach Neisser & Friedemann bedingen kleine Elektrolytmengen eine Umladung der elektroamphoteren Eiweißmoleküle und führen dadurch zur Ausflockung. Die weiteren Studien von Neisser & Friedemann, Bechold, Porges über die Salzwirkung haben die Auffassung über die phänomenologischen Beziehungen zwischen Kolloiden und Präzipitation noch mehr gefestigt. Auch sei noch erwähnt, daß gewisse Hemmungsphänomene bei kolloidalen Lösungen ebenfalls anzutreffen sind (Porges).

Es bestehen danach sicher innige Beziehungen zwischen dem Phänomen der Kolloidfällung und der Präzipitation.

Hervorzuheben wären die besonderen quantitativen Verhältnisse, mit denen auch die Bildung und Lösung der Niederschläge zusammenhängt; auch die Wirkung der Elektrolyte ist da und dort fast die gleiche. Und doch müssen wir für eine Tatsache, die der **Spezifizität der Präzipitation,** neben physikalischen Kräften, welche zweifellos in Frage kommen, immer noch Affinitäten heranziehen, um allen Erscheinungen in einer zusammenfassenden Theorie gerecht werden zu können.

Ueber Spezifizität der Reaktion.

Die Spezifizität dieser Reaktion ist bereits in meiner ersten Arbeit über spezifische Niederschläge ausgesprochen worden. Es wurde gezeigt, daß Cholera-, Typhus-, Pestserum nur in den zugehörigen Kulturfiltraten Niederschläge zu erzeugen vermag. Wurde beispielsweise Choleraserum mit Typhuskulturfiltraten zusammengebracht, so trat kein Niederschlag, keine Trübung auf, die Flüssigkeit war nach 24 Stunden vollkommen klar.

In einer späteren Arbeit „Ueber diagnostische Verwertbarkeit der spezifischen Niederschläge" habe ich mich mit der Frage der Spezifizität ausführlicher beschäftigt. Um die strenge Spezifizität der Reaktion zu beweisen, wurden die Versuche mit Filtraten artverwandter Bakterien angestellt.

Daß Typhus-, Cholera-, Pestserum-Agglutinin alle Typhus-, Cholera-, Peststämme zu agglutinieren vermag, ist bekannt. Gleichen Verhältnissen begegnen wir bei der Präzipitation. Ein Serum, gewonnen mit einem Typhus-, Cholera-, Peststamm, erzeugt Niederschläge in Kulturfiltraten aller Stämme der zugehörigen Bakterien.

Durch die Untersuchungen von Bensaude, Pfaundler, Smith, Rodet, Radziewsky und Rothberger wurde gezeigt, daß ein Immunserum, gewonnen mit einem bestimmten Stamm eines B. coli, nicht alle Colistämme agglutiniert, sondern zunächst den zur Immunisierung verwendeten, andere Stämme gar nicht oder nur in stärkeren Konzentrationen. Ob die Filtrate verschiedener Colistämme einem Coliimmunserum gegenüber sich ähnlich verhalten, wie die der zugehörigen Stämme, darüber haben meine Untersuchungen Aufschluß gebracht.

Versuch: 5 ccm eines fünf Monate alten Bouillonkulturfiltrates (Coli 1) wurden mit 1,0, 0,5, 0,1 Serum versetzt, welches von einem Pferde stammt, welches mit Stamm 1 immunisiert wurde. Nach 24 Stunden tritt in den Proben mit 1,0, 0,5 Serum ein massiger Niederschlag auf, in der Probe mit 0,1 ein geringer Niederschlag.

Wurde dasselbe Serum in Mengen von 1,0, 0,5, 0,1 zu Typhuskulturfiltraten oder zu Filtraten zu B. coli Nr. 15, 19, 1, 10, 9, 37 zugesetzt, so konnten nach 24 Stunden keine Niederschläge konstatiert werden. Nur nach Zusatz von 2 ccm Serum wurden in einzelnen Proben geringe, feine, pulverartige Niederschläge verzeichnet.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß das homologe Serum mit den Filtraten des homologen Stammes (Coli 1) spezifische Niederschläge erzeugt, und zwar in Mengen, welche in gleichalterigen Kulturfiltraten anderer Colistämme keine Reaktion hervorzurufen imstande sind. Das Auftreten geringer Niederschläge in verschiedenen Kulturfiltraten nach Zusatz größerer Serummengen widerspricht nicht dem Gesetze der Spezifizität. Wir begegnen hier einer Erscheinung, die in der Lehre von der Agglutination eingehend studiert wurde, und wie wir sehen werden, auf besondere Partialpräzipitine zurückzuführen ist. In diesen Versuchen konnten eine vollständige Analogie zum Verhalten der Agglutination der Colistämme nachgewiesen werden. Das Serum agglutiniert den Stamm 1 noch in Verdünnungen 1:20000. Dasselbe Serum erzeugt im Filtrate dieses Stammes massige Niederschläge. Andere Colistämme werden von dem Serum gar nicht oder erst mit stärkeren Serumkonzentrationen agglutiniert. Dementsprechend erzeugt auch das Serum in Filtraten verschiedener Colistämme entweder gar keine oder nur ganz geringe Niederschläge, und diese erst nach Zusatz größerer Serummengen.

Der weitere Versuch lehrt wieder die strenge Spezifizität der Reaktion. Es sollte noch entschieden werden, ob coliähnliche Stämme auf das Coliserum 1 reagieren oder nicht.

Zu diesen Untersuchungen wurden Paracolistämme gewählt, die C. Sternberg in seiner Arbeit beschrieben hat. Nach Zusatz von 1 ccm Typhus- oder Coliserum zu den Filtraten der Paracolistämme trat keine Reaktion auf. Nur bei einem Stamme konnte ein geringer Niederschlag beobachtet werden. Auch in diesem Falle ging die Präzipitation mit der Agglutination einher.

Eine weitere Untersuchungsreihe, die mit Cholera- und artverwandten Vibrionen ausgeführt wurde, brachte weitere Bestätigungen für die Spezifizität der Reaktion.

Versuch: 5 ccm eines Cholerafiltrates geben mit 1,0, 0,5, 0,1 ccm eines Choleraserums typische Niederschläge.

Filtrate des Vibrio Nasik, Finkler-Prior, Deneke, Metschnikoff, Danubicus, Elvers geben entweder keine Niederschläge oder nur sehr spärliche erst mit 1 ccm.

Wiederum sehen wir, daß das Choleraserum in Mengen von 0,1 nur in Cholerakulturfiltraten, nicht aber in Filtraten artverwandter Vibrionen Niederschläge erzeugt. Erst größere Serummengen, 1,0, vermögen in einzelnen Kulturfiltraten Niederschläge, allerdings nur spärliche, hervorzurufen. Diese Erscheinung, die in den Versuchen mit B. coli bereits konstatiert wurde, geht auch hier Hand in Hand mit der Agglutination.

Diese Versuche beweisen in zwingender Weise, daß dieser Reaktion bei Berücksichtigung quantitativer Verhältnisse eine Spezifizität zukommt. Die Spezifizität geht vollkommen parallel mit der agglutinierenden Wirkung des Serums, so daß auf Grund dieser Untersuchungen der Präzipitation eine ebensolche diagnostische Bedeutung zuzuschreiben sein dürfte, wie die Agglutination der Bakterien.

Zupnik[132] hat mit Außerachtlassung des Grundprinzips der Immunitätsforschung durch Nichtberücksichtigung der quantitativen Verhältnisse dieser Reaktion die Spezifizität abgesprochen. Zupnik hat eben zu große Serummengen verwendet, so daß das Verhältnis Serum und Filtrat 1:2, 1:4 war, statt wie in unseren Versuchen ein Verhältnis 1:10, 1:50 zu wählen; selbstverständlich bekam Zupnik auch Niederschläge in Filtraten artverwandter Bakterienarten.

Ebenso wie die Bakterienzelle eine Reihe von verschiedenartigen Antigenen enthält, muß man auch in der tierischen Zelle, im Eiweißmolekül eine Anzahl verschiedener Antigene annehmen. Der Organismus produziert auf Einverleibung des tierischen Eiweißes eine Reihe qualitativ verschiedener Antikörper. Nur durch Heranziehung der quantitativen Methode gelingt es, wie Uhlenhuth, Wassermann & Schütze u. a. betont haben, die Spezifizität der Reaktion für tierisches Eiweiß zu beweisen.

Uhlenhuth, Wassermann & Schütze, Nuttall, v. Dungern, Stern u. a. konnten zeigen, daß das Präzipitin nicht nur zugehöriges Präzipitinogen fällt, sondern bei stärkeren Konzentrationsverhältnissen auch mit mehr oder weniger artverwandtem Niederschläge gibt*).

Durch die Untersuchungen verschiedener Autoren, insbesondere durch diejenigen von Ascoli, v. Dungern ist nachgewiesen worden, daß neben dem Hauptpräzipitin noch Partialpräzipitine gebildet werden.

Die Sera von Kaninchen, die mit Plasma von Maja squinado gleichmäßig behandelt waren, verhielten sich nicht nur quantitativ,

---

*) Auch auf diese Fragen soll hier nicht näher eingegangen werden, da sie Gegenstand der Bearbeitung von Uhlenhuth sind.

sondern auch qualitativ verschieden. v. Dungern glaubt, daß diese Beobachtungen sich ungezwungen nur dadurch erklären lassen, daß jedes Präzipitin nicht eine einheitliche Substanz darstellt, sondern aus einer Reihe von Partialpräzipitinen zusammengesetzt ist. Jedem einzelnen Präzipitin entspricht eine besondere bindende Gruppe der präzipitablen Substanz, die entweder für die betreffende Krebsart spezifisch ist oder aber auch bei einer oder mehreren anderen Krebsarten vorkommen kann. Die Plasmaeiweiße sind nach v. Dungerns Ausführungen als komplexe Körper aufzufassen, welche verschiedene reaktionsfähige Molekülkomplexe besitzen. Durch Absättigungsversuche, ähnlich wie sie Ascoli ausgeführt hatte, gelingt es v. Dungern die in seinem Buche „Die Antikörper" entwickelte Anschauung über die Vielheit der Präzipitine und deren Spezifizität wesentlich zu stützen. Es gelingt aber, wie bereits angeführt wurde, die Bildung der Partialpräzipitine zu verhindern und auf diese Weise ganz spezifische Präzipitine zu gewinnen.

Durch Absättigung des Serumpräzipitinogens in einzelnen Organen konnten, wie bereits angeführt wurde, spezifische Organpräzipitine gewonnen werden (Weichardt & Kister, Liepmann, Forssner, Grund). Durch kreuzweise Immunisierung (Kaninchen—Hasen) erhielt Uhlenhuth nur das Hauptpräzipitin, da Kaninchen, mit Hasenserum vorbehandelt, auf das darin enthaltene Kaninchenpräzipitinogen (Partial) mit der Bildung von Präzipitin nicht reagierten.

Während es also gelungen ist, streng artspezifische, sogar organspezifische Präzipitine zu gewinnen, haben die Versuche zur Differenzierung verschiedener Eiweißkörper derselben Tierart nur negative Resultate zu verzeichnen.

Zur Frage der Differenzierung der chemisch differenten Eiweißkörper.

Ide & Leblanc behaupten, mit einzelnen Eiweißfraktionen (Eu-, Pseudoglobulin, Hämoglobin) des Rinderserums spezifische Präzipitine für die einzelnen Fraktionen gewonnen zu haben. Hamburger fand, daß Kuhmilchalbumin beim Kaninchen ein Serum hervorrufe, welches nur Albumin und nicht Kaseïn fällt. Das durch Kaseïninjektionen gewonnene Präzipitin fällt nur Kaseïn und nicht Albumin. Nach Untersuchungen von Obermayer & Pick, Umber, Rostoski, Michaelis & Oppenheimer, Landsteiner & Calvo u. a., besteht die Spezifizität der Präzipitine für die einzelnen Eiweißkörper einer bestimmten Tierart nicht zu Recht. Obermayer & Pick behandelten Kaninchen mit den aus dem Eiklar dargestellten Eiweißkörpern. Die nach verschieden langer Behandlung gewonnenen Präzipitine gaben nicht nur mit den zur Immunisierung verwendeten Körpern Niederschläge, sondern es reagierten auch andere Eiklarbestandteile in unregelmäßiger Reihe mit dem Serum.

Obermayer & Pick nehmen an, daß Immunprodukte, welche durch Injektion von verschiedenen Eiweißkörpern des Eiklars hervorgerufen wurden, einer absolut spezifischen Wirkung auf diese einzelnen Eiweißkörper entbehren. Den gleichen Standpunkt vertreten auch Umber, Landsteiner & Calvo, Rostoski u. a.

Michaelis & Oppenheimer fanden ein Antirinderalbuminserum auch wirksam gegen Globulin; das Antialbuminserum gab auch mit Pseudoglobulin eine schwache Reaktion; das Antiglobulinserum erwies sich wirksam für beide Globuline, nicht für Albumin. Das Euglobulin und Pseudoglobulin rufen demnach Präzipitine hervor, die auf Globulin und nicht auf Albumin einwirken. Interessant ist die Beobachtung der beiden Autoren, daß mit einem Vollserum ein Präzipitin erzeugt werde, welches auf Vollserum, Gesamtglobulin, Pseudo-Euglobulin wirkt, nicht auf Albumin. Mit Albumin gelang es jedoch ein Antialbuminpräzipitin zu gewinnen. (Nolf konnte mit Albumin aus Pferdeserum kein Präzipitin erzeugen.) Nach Michaelis & Oppenheimer besteht eine absolute chemische Spezifizität der Reaktion nicht.

Es ist auch danach unmöglich, an eine Verwertbarkeit der Reaktion zur qualitativen chemischen Trennung der verschiedenen Eiweißkörper desselben Tieres zu denken.

Trotz dieser ablehnenden Haltung der Autoren gegen eine biologische Differenzierung der chemisch als different angenommenen Eiweißkörper versucht Ascoli mittelst der biologischen Methode der Absättigung dieser Frage näher zu treten. Ascoli behandelte Kaninchen mit einzelnen Eiweißfraktionen aus Rinderserum. Die Sera von diesen Tieren wurden, sobald sie sich als stark wirksam erwiesen hatten, zum Versuche verwendet. Es ergab sich nun, daß nach Absättigung der Fraktionen mit dem zugehörigen Präzipitin der weitere Zusatz der nicht homologen Fraktionen zum Präzipitin oder von Vollserum zu der Fraktion keinen Niederschlag mehr bewirkten. In den anderen Versuchen dagegen, in welchen das Serum mit nicht zugehörigen Fraktionen erschöpft war, hatte es sein Fällungsvermögen gegenüber den homologen bzw. oft auch gegen bestimmte andere, nicht homologe Fraktionen und gegen Vollserum nicht eingebüßt. Zum besseren Verständnis des Gesagten soll der Versuch Ascolis wiedergegeben werden.

Serum von Kaninchen mit Pferdeserum behandelt.

I. 20 Tr. Serum + 60 Tr. Euglobulinlösung = + nach 24 Stunden zentrifugiert, dann

10 Tr. der klaren Flüssigkeit + 4 Tr. Pferdeserum = +
10 Tr. „ „ „ + 4 Tr. Euglobulinlösung = +
10 Tr. „ „ „ + 6 Tr. Pseudoglobulinlös. = +

II. 20 Tr. Serum + 60 Tr. Pseudoglobulinlösung = + nach 24 Stunden zentrifugiert, davon

10 Tr. klare Flüssigkeit + 4 Tr. Pferdeserum = +
10 Tr. „ „ + 4 Tr. Euglobulinlösung = +
10 Tr. „ „ + 4 Tr. Pseudoglobulinlös. = —

III. 20 Tr. Serum + 60 Tr. Serumalbumin I Fr. = + nach 24 Stunden zentrifugiert

10 Tr. der klaren Flüssigkeit + 4 Tr. Pferdeserum = +
10 Tr. „ „ „ + 6 Tr. Serumalbumin I = —

Serum von Kaninchen mit Pseudoglobulin behandelt.

I. 10 Tr. Serum + 30 Tr. Euglobulin = + nach 24 Stunden zentrifugiert, davon

10 Tr. der klaren Flüssigkeit + 8 Tr. Euglobulinlösung = —
10 Tr. „ „ „ + 8 Tr. Pseudoglobulinlös. = +
10 Tr. „ „ „ + 6 Tr. Pferdeserum = +

Die Versuche mit der Serumalbuminfraktion II, III fallen ganz gleich aus.

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, daß es mittelst der elektiven Absättigung gelingt, die einzelnen im Serum vorhandenen Präzipitine nachzuweisen, und auf diese Weise auch die Spezifizität der einzelnen Präzipitine. Interessant ist noch ein Versuch Ascolis, mit Pseudoglobulin ausgeführt, der darauf schließen läßt, daß im Pseudoglobulin viele Präzipitinogene enthalten sein dürften. Sättigt man das mit Pseudoglobulin gewonnene Serum zunächst mit Euglobulin ab, lassen sich in der Flüssigkeit noch Präzipitine für Pseudoglobulin und Vollserum nachweisen. Wird dagegen das Immunserum mit Pseudoglobulin abgesättigt, so hat es die präzipitierende Fähigkeit nicht nur für Pseudoglobulin, sondern auch für Euglobulin und Vollserum eingebüßt. Es würde sich daraus ergeben, daß unter geeigneten Versuchsbedingungen eine Spezifizität der Präzipitine für die chemisch differenten Eiweißkörper nachweisbar ist, somit auch eine biologische Differenzierung zugestanden werden könnte. Diesen Versuchen Ascolis stehen jedoch folgende Resultate von Obermayer & Pick entgegen.

Aus 300 ccm Rinderserum haben die Autoren durch fraktionierte Ammonsulfatfällung die Euglobulin- und Pseudoglobulinfraktion dargestellt und beide so gewonnene Globuline durch wiederholte Fällungen derart gereinigt, daß das Euglobulin kein nachweisbares Pseudoglobulin enthält und ebenso das Pseudoglobulin von jeder durch Salzfällung merklichen Verunreinigung mit Euglobulin frei ist. Die beiden endlich erhaltenen gut abgepreßten Fällungen werden im Wasser gelöst in der Weise, daß dann die Euglobulinlösung 85 $^0/_0$ ist, die Pseudoglobulinlösung 27 $^0/_0$ Substanz enthält. Nachdem das Verhalten der beiden Lösungen gegenüber einem Kaninchenrinderimmunserum, sowie einem Rinderserum festgestellt worden war, wird ein Teil der Globulinlösungen, sowie das Rinderserum auf diejenige Verdünnung gebracht, bei der das stärkste Präzipitat auftrat (100-fache Verdünnung).

Von dieser Verdünnung wird 1 ccm mit 1 ccm unverdünntem Immunserum versetzt. Die Probe bleibt 12 Stunden bei 37^0, wird hierauf zentrifugiert und die klaren Lösungen von den entstandenen Niederschlägen abgehoben.

Die so erhaltenen Filtrate werden folgendermaßen geprüft:

a) Filtrat des Euglobulinpräzipitates.

$^1/_2$ ccm d. Filtr. + $^1/_2$ ccm $^1/_{100}$mal vdt. Euglobulinlösung	Alle Proben bleiben selbst nach 24 Std. klar
$^1/_2$ ccm „ „ + $^1/_2$ ccm $^1/_{100}$mal vdt. Pseudoglobulinlg.	
$^1/_2$ ccm „ „ + $^1/_2$ ccm $^1/_{100}$mal vdt. Rinderserum	

b) Filtrat des Pseudoglobulinpräzipitates.

$^1/_2$ ccm d. Filtr. + $^1/_2$ ccm $^1/_{100}$fach vdt. Pseudoglobulinlg.		Alle Proben bleiben selbst nach 24 Std. klar
$^1/_2$ ccm „ „ + $^1/_2$ ccm $^1/_{100}$fach vdt. Euglobulinlösung		
$^1/_2$ ccm „ „ + $^1/_2$ ccm $^1/_{100}$fach vdt. Rinderserum		

c) Filtrat des Rinderserumpräzipitates.

$^1/_2$ ccm d. Filtr. + $^1/_2$ ccm $^1/_{100}$fach vdt. Rinderserum		Alle Proben bleiben selbst nach 24 Std. klar
$^1/_2$ ccm „ „ + $^1/_2$ ccm $^1/_{100}$fach vdt. Euglobulinlösung		
$^1/_2$ ccm „ „ + $^1/_2$ ccm $^1/_{100}$fach vdt. Pseudoglobulinlg.		

d) Kontrolle der Immunserumverdünnung.

Kaninchenrinderimmunserum wird mit dem gleichen Volumen physiologischer NaCl-Lösung verdünnt und von dieser Lösung je $^1/_2$ ccm mit je $^1/_2$ ccm 100mal verdünnter Euglobulin-, Pseudoglobulinlösung und Rinderserums versetzt. In allen Proben treten rasch starke Trübungen auf und nach kurzer Zeit reichliche Niederschläge.

Ueber spezifische und nichtspezifische Hemmungen.

Im Vorangehenden wurde gezeigt, daß chemisch-physikalische Agentien sowohl Präzipitinogen als auch Präzipitin in mehrfacher Weise beeinflussen können. Zunächst äußert sich dieser Einfluß in einer Aenderung der Reaktionsgeschwindigkeit; ferner in der Abnahme der Koagulierbarkeit der reagierenden Körper. Hand in Hand mit dem Verlust der Koagulierbarkeit kommt eine Aviditätserhöhung der Bindungsfähigkeit zustande. Diese Aviditätssteigerung des modifizierten Körpers im Vergleich zum intakten ist die Ursache eines besonderen Hemmungsphänomens.

Anschließend an die Beobachtung, daß Typhuspräzipitin, auf 58 bis 60° erwärmt, seine präzipitierende Fähigkeit verliert, haben Kraus & v. Pirquet die Frage zunächst entscheiden wollen, ob Präzipitin vollständig zerstört oder bei Erhaltung der Bindungsfähigkeit bloß unkoagulabel geworden ist.

Der folgende Versuch gibt auf diese Frage die Antwort:

Versuch: a) 5 ccm Cholerafiltrat + 0,5 ccm inakt. Choleraserums, nach 10 Std. kein Niederschlag
+ 0,5 „ akt. Serum, nach 10 Std. kein Niederschlag
+ 10 „ Cholerafiltrat, nach 10 Std. typ. Niederschlag

b) 5 ccm Cholerafiltrat + 0,5 „ inakt. Choleraserums, nach 10 Std. kein Niederschlag
+ 10 „ Cholerafiltrat, nach 10 Std. kein Niederschlag
+ 0,5 „ akt. Serum, nach 10 Std. typ. Niederschlag

c) 15 ccm Cholerafiltrat + 1,0 „ inakt. Serum, nach 10 Std. kein Niederschlag
+ 1,0 „ akt. Serum, nach 10 Std. typ. Niederschlag.

Diese Versuche, in welchen in Gemischen von Filtrat und inaktiviertem Serum nach Zusatz von aktivem Serum Niederschläge erst dann entstanden sind, wenn auch Filtrate wieder zugesetzt werden, lassen deutlich erkennen, daß die Niederschlagshemmung bloß von dem Verhältnisse der Menge des inaktivierten Serums zur Menge des Präzipitinogens abhängig sein dürfte. Daß die niederschlagshemmende Substanz nicht auf das Präzipitin einwirken könne, wie es Pick aus seinen Versuchen ableitet, geht aus folgendem Versuch hervor:

Versuch: a) 0,5 ccm inakt. Choleraserum + 0,5 akt. Choleraserum,
nach 10 Std. dazu + 5 akt. Filtrat, nach 10 Std. kein Niederschlag
+ 10 akt. Filtrat, nach 10 Std. typ. Niederschlag
b) 0,5 ccm inakt. Choleraserum + 1,0 akt. Choleraserum,
nach 10 Std. dazu + 15 Cholerafiltrat, nach 10 Std. typ. Niederschlag
c) 1,0 ccm inakt. Choleraserum + 1,0 akt. Choleraserum,
nach 10 Std. dazu + 10 Cholerafiltrat, nach 10 Std. kein Niederschlag.

Diese Versuche lehren, daß die niederschlagshemmende Substanz nicht auf das Präzipitin eingewirkt haben konnte, da doch sonst kein Niederschlag hätte entstehen dürfen. Diese und die früheren Versuche lassen nur den Schluß zu, daß die hemmende Substanz das Präzipitinogen bindet und aus diesem Grunde niederschlagshemmend wirkt. Wählt man die Versuchsbedingungen derart, daß das inaktivierte Serum die vorhandene Menge des Präzipitinogens vollständig bindet, so kann nach neuerlichem Zusatze eines aktiven Serums kein Niederschlag entstehen. Es kommt erst dann zur Bildung von Niederschlägen, wenn eine überschüssige Menge Präzipitinogen zugesetzt wird, die von dem frei gebliebenen Präzipitin gefällt werden kann.

Sicher ist nach dem Vorhergehenden, daß die Bindungskraft trotz Verlust der Koagulabilität erhalten bleiben kann.

Noch ein Phänomen, wie folgender Versuch lehrt, konnte gleichzeitig festgestellt werden, welches man auf eine Aviditätssteigerung der Präzipitoïde zurückführen wollte.

5 ccm	Cholerafiltrat	+ 0,5	akt.	altes Choleraserum,	n. 24	Std.	Niederschlag
5 „	„	+ 1,0	„	„ „	„ 24	„	θ
5 „	„	+ 2,0	„	„ „	„ 24	„	θ
15 „	„	+ 2,0	„	„ „	„ 24	„	Niederschlag

Auch diese Erscheinungen, sowie die der spezifischen Hemmung wird neuerdings auf Grund analoger Phänomene bei den Kolloiden als eine kolloidale hingestellt. Einerseits entstehen Schutzkolloide, andererseits ändert sich durch die Zustandsänderung der Präzipitoïde das zur Fällung notwendige optimale Verhältnis, wodurch nach PORGES das Hemmungsphänomen aufgeklärt ist.

MÜLLER konnte durch Einwirkung höherer Temperaturen auf Laktoserum konstatieren, daß dasselbe die Eigenschaft erworben hatte, frisches aktives Serum in seiner präzipitierenden Wirkung zu hemmen. Nachdem MÜLLER alle Möglichkeiten, welche die Ursache dieser hemmenden Wirkung des erwärmten Laktoserums sein könnten, in Diskussion gezogen hatte, nämlich daß es nicht an der physikalischen Beschaffenheit des Serums, nicht in den Kalkverhältnissen, nicht in der Einwirkung auf Präzipitine gelegen ist, geht er daran nachzuweisen, daß aus dem Präzipitin hemmende Substanzen hervorgehen dürften. Wird aktives Laktoserum mit Milch versetzt und auf diese Weise seines Präzipitins beraubt, so vermag die nach Entfernung des Niederschlages gewonnene inaktivierte Flüssigkeit nicht hemmend zu wirken. Dieser Versuch lehrt, daß die hemmende Substanz in genetischer Beziehung zum Laktopräzipitin steht und daß aus diesem direkt die hemmenden Substanzen, „Präzipitoïde", hervorgehen. Ein weiterer Versuch MÜLLERS bestätigt vollkommen diese Annahme. Nachdem MÜLLER fand, daß das wirksame Laktopräzipitin im Euglobulin und nicht in der Pseudoglobulin- und Albuminfraktion des Serums nachweisbar ist, ging er daran, die hemmende Substanz in den einzelnen Fraktionen zu suchen. MÜLLER gelang es bei entsprechender Versuchsanordnung zu zeigen, daß durch Inaktivierung nur diejenige Fraktion (Euglobulin) hemmende Eigenschaften erworben hat, in der das Präzipitin enthalten war, den anderen Fraktionen kam keine hemmende Eigenschaft zu. Auf Grund dieser Versuche glaubt MÜLLER annehmen zu können, daß die hemmenden Substanzen als Präzipitoïde, als Präzipitinderivate, aufzufassen sind.

Zu gleichlautenden Resultaten gelangt auch EISENBERG, welcher mit inaktiviertem Serumpräzipitin spezifisch hemmende Wirkungen hervorrufen konnte. Auch EISENBERG gelangt zu dem Schlusse, daß die hemmenden Substanzen aus dem präexistierenden Präzipitin hervorgehen und ebenso wie das intakte Präzipitin das Präzipitinogen zu binden imstande ist. Neu ist in den Versuchen von EISENBERG die festgestellte Tatsache, daß auch dem modifizierten Präzipitinogen (Präzipitoïd) analoge Eigenschaften zukommen, wie dem Präzipitoïd des Präzipitins. Durch 1—$1^1/_2$-stündiges Erhitzen einer verdünnten Hühnereiweißlösung verliert nach EISENBERG dieselbe die Präzipitierbarkeit, behält dabei das Bindungsvermögen für Präzipitin. Das erhitzte Eiweiß hat außerdem die Fähigkeit erworben, die Präzipitation unerhitzter Eiweißlösungen durch ein Präzipitin zu hemmen. Das erhitzte Eiweiß bindet infolge der erhöhten Avidität das Präzipitin, so daß dieses nicht mehr mit dem nativen Eiweiß reagiert. Aus diesen Versuchen EISENBERGS geht die vollkommene Analogie der Funktionen der Präzipitoïde des Präzipitinogens mit denen der Präzipitine hervor.

MICHAELIS kommt auf Grund seiner Untersuchung zu gleichen Resultaten wie KRAUS, MÜLLER, EISENBERG. MICHAELIS zeigt, daß

die Wirkung der Präzipitoïde eine spezifische sei, insofern, als normalen Seris eine spezifisch hemmende Eigenschaft nicht zukommt. Mit großen Mengen, 0,5—1,0 ccm, Serum vom Pferd, Ziege kann man die Wirkung der Präzipitine aufheben. Die hemmende Wirkung der spezifischen Präzipitoïde äußert sich aber schon in geringen Mengen, und zwar nur auf das homologe Präzipitinogen. Das Präzipitoïd des Pferdepräzipitins hemmt die Präzipitation im Pferdeserum, nicht aber die des Ziegenpräzipitins mit Ziegenserum, nicht die des Menschenpräzipitins mit Menschenserum. Spät gelangt auf Grund von Versuchen zu der Annahme, daß diese Hemmung nicht auf einer Bindung, wie allgemein geglaubt wird, beruhe. Nach seinen Untersuchungen erweisen sich die Präzipitine und Präzipitinogene nach entsprechender Einwirkungsdauer frei. Eine andere Erklärung für dieses Phänomen weiß aber Spät nicht zu geben.

Neben dieser Hemmung durch erhitztes Serum (Präzipitoïde) können spezifische Hemmungen auch durch nicht erhitztes Präzipitinogen hervorgerufen werden. Daß erhitzte Eiweißlösungen (Präzipitoide des Präzipitinogens) hemmend wirken können, wurde bereits erwähnt. Michaelis zeigt, daß auch das intakte Präzipitinogen im Ueberschuß zugesetzt die Niederschlagsbildung in spezifischer Weise hemmen kann und den bereits entstandenen Niederschlag lösen kann. Diese letztere Beobachtung ist auch von Müller, Eisenberg beschrieben und hat ihre Besprechung im Kapitel über Präzipitate erfahren. Eisenberg, Rostoski, Moll, Schur haben gleiches beobachtet. Eisenberg erklärt die Hemmung durch Lösung des Niederschlages im Ueberschuß des Präzipitinogens. Moll widerspricht dieser Auffassung Eisenbergs, indem er nachzuweisen versucht, daß der Ueberschuß der reagierenden Substanz den Niederschlag nicht löst, sondern dessen Entstehen hemmt.

Neben diesen spezifischen Hemmungen der Reaktion, hervorgerufen durch spezifische Präzipitoïde, kennen wir noch Faktoren, die zwar auch eine Niederschlagshemmung bedingen, denen aber eine spezifische Wirkung nicht zukommt.

Einzelne Autoren (Landsteiner & Halban, Michaelis u. a.) haben die Beobachtung gemacht, daß normale Sera die Wirkung der Präzipitine zu beeinträchtigen imstande sind. Diese Art der Hemmung ist, wie Versuche von Michaelis lehren, nicht spezifischer Natur. Die Kenntnis dieser Tatsache ist insofern von Wichtigkeit, als deren Vernachlässigung bei der praktischen Verwertbarkeit der Reaktion (forensischer Blutnachweis) die Fehlerquelle grober Irrtümer sein könnte.

Daß Elektrolyte die Bildung von Niederschlägen zu beeinflussen vermögen, wurde bereits hervorgehoben. Salze haben einen bestimmenden Einfluß auf die Präzipitation (Pick, Rostoski, Müller, Hamburger, Eisenberg). Ausführliches darüber s. Landsteiner, dieses Handbuch.

Vom Gesichtspunkt der Kolloidchemie wurde die Rolle der Salze von Neisser & Friedemann, Bechold, Porges neuerdings studiert.

Die Frage der Beziehungen der Präzipitine zur Agglutination, zum Bordet-Gengouschen Antikörper, zum anaphylaktischen Reak-

tionskörper soll hier nicht besprochen werden (s. die betreffenden Kapitel dieses Handb.).

Verwertbarkeit der Bakterienpräzipitine zur Diagnose der Krankheiten und Bakterien.

Die Serumdiagnose der Krankheiten mittels Präzipitine.

Die Versuche von Fornet, mittels Präzipitinreaktion eine Diagnose des Typhus zu stellen, haben bis heute eine allgemeine Anerkennung nicht gefunden. Fornet gibt an, daß es ihm gelungen sei, mittels eines von Kaninchen gewonnenen Typhusimmunserums im Blutserum von Typhuskranken, ferner auch in dem Harne eines solchen Patienten, eine typische Niederschlagsbildung hervorzubringen, d. h. also Präzipitinogen der Typhusbakterien nachzuweisen. Diese Reaktion gewänne hauptsächlich dadurch an praktischem Wert, daß sie bereits in den ersten Krankheitstagen, in denen die Gruber-Widalsche Reaktion noch negativ ist, einen positiven Ausfall geben soll. Allerdings gab nach den Versuchstabellen von Fornet auch normales Kaninchenserum mit Typhuspatientenserum Flockenbildung, die jedoch ein anderes Aussehen hatte, als die vom spezifischen Serum erzeugte.

Im Wiener Institute schon vor längerer Zeit in derselben Richtung angestellte Versuche ergaben ein negatives Resultat. Auch weitere Versuche von Russ führten zu negativen Ergebnissen. Ein Serum (Pferd), welches in Filtraten aus Typhusbouillonkulturen typische Niederschläge erzeugte, ließ Serum von Typhuskranken (positiver Widal) vollkommen klar. Nach Zusatz von 1 bis 2 ccm des Pferdeserums zu 1—2 ccm Serum der Kranken blieb die Flüssigkeit nach 24 Stunden bei 37° klar. Gegen die Versuche von Russ wendet Fornet ein, daß die meisten der von ersterem gewählten Patientensera zum Nachweise des Präzipitinogens nicht geeignet waren, da sie aus einer zu späten Krankheitsperiode stammten. Das Präzipitinogen soll sich nach Fornet nur ganz im Beginne der Erkrankung im Blutserum der Patienten vorfinden. Die Fälle von Russ gaben aber zumeist schon positiven Ausfall der Gruber-Widalschen Reaktion.

Auch Meyer hat bei der Nachprüfung der Fornetschen Angaben absolut negative Resultate gewonnen.

Fornet, Schereschewsky, Eisengiesser & Rosenfeld haben die Syphilis, Tabes, Paralyse, Scharlach, Masern ebenfalls mittels der Präzipitinreaktion diagnostizieren wollen. Durch Mischung von Serum erkrankter Menschen als präzipitinogenhaltigem Serum mit Serum, welches Präzipitine enthält, sollten spezifische Niederschläge entstehen. Auch diese Angaben finden in der Literatur keine weitere Bestätigung.

Bonomes[133] Versuche, die darauf hinausgehen, mit Serum von tuberkulösen Rindern und Menschen und Präzipitinogen aus Tuberkelbacillen spezifische Präzipitation zu bekommen, sind bei der Nachprüfung nicht bestätigt worden (E. Stoerk, Ruppel und Riekmann).

(Calmette & Massol, Finzi erhielten mit Serum tuberkulöser Menschen und Rinder im Tuberkulin Präzipitate.)

Dagegen haben die Bakterienpräzipitine für die Diagnose des Rotzes, des Milzbrandes, der cerebrospinalen Meningitis klinische Bedeutung gewonnen.

Serumdiagnose des Rotzes.

Dediulin, Wladimiroff[134] haben im Serum rotzkranker Pferde Präzipitine festgestellt und Wladimiroff hat als erster das Serum zu diagnostischen Zwecken benutzt*). Durch die Arbeiten von Pfeiler, Miessner ist eine einwandfreie Technik ausgearbeitet worden.

Methode von Pfeiler:

Das zu prüfende Serum wird in unverdünntem Zustande auf den Boden der Uhlenhuth-Röhrchen gegossen und mit dem Antigen überschichtet. Letzteres stellt einen Extrakt von Rotzbacillen dar, der mit normalem Pferdeserum verdünnt ist, das „Reagierserum". Das zur Herstellung des Reagierserums erforderliche „Verdünnungsserum" darf an und für sich, über artgleiches Serum geschichtet, keine Ringbildung eintreten lassen. „Wir empfehlen", sagt Pfeiler weiter, „in Karbolkochsalzlösung oder karbolisiertem Pferdeserum hergestellte, filtrierte (ungebrauchte Reichelkerzen; mehrmals gebrauchte halten die Präzipitinogene zurück) Rotzbacillenextrakte zu verwenden. Die Wirksamkeit dieser Extrakte hängt von ihrer Konzentration ab. Gut bewachsene Kollesche Schalen schwemmen wir mit 40—50 ccm Karbolkochsalzlösung oder karbolisiertem Pferdeserum ab. Das filtrierte Schüttelextrakt wird mit der 6—12-fachen Menge nicht zu alten unkarbolisierten Pferdeserums kurz vor dem Versuch verdünnt. Um dieses Reagierserum spezifisch leichter zu machen als die Proben, welche untersucht werden sollen, fügen wir auf 1 ccm Extrakt 1 ccm Kochsalzlösung hinzu. Das Reagierserum trübt sich kurze Zeit nach der Mischung (Normalpräzipitation). Das Verfahren selbst gestaltet sich folgendermaßen: Es werden von jeder Serumprobe je 0,3 ccm des nicht inaktivierten zu prüfenden Serums in zwei Uhlenhuth-Röhrchen gefüllt. Darauf läßt man aus einer Pipette mit $^1/_{100}$ ccm Einteilung zunächst in ein Röhrchen (Prüfungsröhrchen) an die Innenfläche des oberen Randes des Röhrchens 0,04—0,05 ccm des Reagierserums laufen. Man verschließt nun die obere Oeffnung der Pipette so lange, bis der herunterlaufende Tropfen die Oberfläche des zu untersuchenden Serums erreicht hat. Erst dann wird wieder geöffnet. Langsam läßt man weitere 0,26 ccm des Reagierserums an der Wand des Röhrchens auf das Serum fließen. Bei dieser Vorsicht wird das untere Serum kaum aufgewirbelt. Das Reagierserum schichtet sich scharf abgegrenzt auf das untere. Das zweite Uhlenhuth-Röhrchen wird in der gleichen Weise überschichtet, jedoch mit einem Gemisch von zwei Teilen Kochsalzlösung und 6—12 Teilen des Verdünnungsserums. Nur gut geschichtete Proben sind zu untersuchen. Man sieht in den Röhrchen dann oben eine schwach trübe, etwas graue, unten eine klare

*) Ausführliches darüber s. Wladimiroff, Handb. d. Technik und Methodik Kraus-Levaditi, Ergänzungsband S. 416.

Serumschicht, die durch eine farblose scheibenförmige Zone voneinander getrennt sind. Diese Zone ist das Merkmal der Reaktion und ist zu beobachten. Stark präzipitinhaltige Sera reagieren momentan (1—10 Minuten) durch die Bildung eines kräftigen grauen Ringes an der Berührungsstelle beider Sera. Die Proben werden bei Zimmertemperatur gehalten. Nach spätestens einer Stunde muß das Ergebnis abgelesen werden. Nach dieser Zeit können auch Normalringe aufgetreten sein. Den zeitlichen Abschluß der Reaktion stellt man am besten so fest, daß man zunächst ein oder mehrere durch einen hohen Normalpräzipitingehalt ausgezeichnete Kontrollsera von nichtrotzigen Pferden überschichtet. Darauf erfolgt die Schichtung der neu zu untersuchenden Proben und nach 10 Minuten die der rotzigen Kontrollsera. Sind unter den zu untersuchenden Proben Sera von Rotzpferden, so müssen diese deutliche Ringbildung, mindestens gleichzeitig mit den rotzigen Kontrollseris, aber lange vor dem eventuellen Auftreten der im übrigen nicht so scharf abgegrenzten schwächeren Normalringe zeigen. Als weitere Kontrollen sind, geschichtet über sämtliche Kontrollsera, je 0,3 ccm des Verdünnungsserums + Kochsalzlösung und 0,6 ccm des Verdünnungsserums allein anzusetzen. Ringbildung darf bei den Kontrollen nur in den Prüfungsröhrchen der Rotzsera eintreten. Die Grenzschicht jedes Prüfungsröhrchens und das dazugehörige Serumkontrollröhrchen muß miteinander verglichen werden. Es sei noch darauf aufmerksam gemacht, daß die echten Präzipitationsringe sich im Verlaufe von mehreren Stunden verbreitern, wobei sie ihre scharfe Abgrenzung verlieren. Sie sind als zonenförmige, unscharfe Trübungen gewöhnlich noch nach 12 und 24 Stunden zu erkennen, während die Normalringe schon nach 2—4 Stunden verschwunden zu sein pflegen. Ein Präzipitat findet sich selten am Boden der Prüfungsröhrchen. Auch dieses ist mit eventuellen Ausfällungen der Serumkontrollröhrchen, sowie der übrigen Kontrollen zu vergleichen.

Methode von Miessner:

Das zu prüfende Serum wird ebenfalls unverdünnt in die Uhlenhuthschen Röhrchen getan (ca. 0,5 ccm, auf eine genaue Dosierung kommt es nicht an). Als Antigen wird eine Lösung des im Handel käuflichen Malleinum siccum Foth übergeschichtet. Dieses Präparat muß kurz vor dem Versuch in physiologischer Kochsalzlösung gelöst werden, und zwar eine Dosis (0,025 g) in 10 ccm Flüssigkeit; stärkere Konzentrationen geben zuweilen auch mit normalen Seris trübe Ringe, während mit schwächeren der Präzipitationsring bei rotzigen Seris undeutlich ausfallen kann. Nach Miessners Versuchsanordnung bleiben die Röhrchen etwa 2 Stunden lang im Thermostaten bei 37°. Nach Ablauf dieser Zeit wird das Resultat festgestellt. „Im Falle einer Präzipitation entsteht an der Berührungsfläche der beiden Schichten ein trüber, ca. 1—$1^1/_2$ mm breiter Ring, welcher ausbleibt, wenn beide Flüssigkeiten nicht im Sinne der Präzipitation aufeinander einwirken.“ Der Ring hält sich annähernd 20 Stunden lang. Miessner macht darauf aufmerksam, daß man bei manchen Seren an der Berührungsfläche mit der Malleinlösung eine leicht getrübte Zone beobachtet, welche sich jedoch durch ihre geringe Trübung und Schärfe wesentlich von dem eigentlichen Präzipitationsring unterscheidet. Alter des Serums und konservierender

Karbolzusatz soll keinen Einfluß auf den Ausfall der Reaktion haben.

Methode von Müller:

Auch Müller bedient sich der Ascolischen Schichtungsmethode, wobei er in kleine Reagenzgläschen von 0,5 ccm Weitendurchmesser zunächst zirka sechs Tropfen des spezifisch schwereren präzipitinhaltigen Serums füllt und dann vorsichtig die gleiche Menge des präzipitinogenhaltigen Bacillenextraktes hinzufügt. Zur Herstellung des letzteren werden dreitägige Glyzerinagarkulturen mit physiologischer NaCl-Lösung abgeschwemmt (5 ccm auf eine gewöhnliche Reagenzglaskultur oder 20 ccm auf eine Kultur in Rouxscher Flasche) und die Emulsion nach 1—2-tägigem Aufenthalt im Thermostaten durch Chamberlandkerzen filtriert. Der Präzipitinogengehalt in den Emulsionen nimmt bei Brutwärme bis zum 12. Tage zu, hält sich dann auf gleicher Höhe, um vom 30. Tage ab allmählich zu sinken. Schüttelextrakte sind für die Präzipitationsreaktion weniger geeignet. Bei der Beurteilung der Reaktion verfährt Müller in der Weise, „daß die überschichteten Röhrchen zunächst 5 Minuten bei Zimmertemperatur beobachtet werden. Die Reaktion tritt bei stark rotzpräzipitinhaltigem Serum momentan oder nach Ablauf weniger Minuten deutlich in Erscheinung und kann hiermit bereits als positiv angesprochen werden. Ist keine oder nur schwache Reaktion bemerkbar, so kommen die Eprouvetten 10—30 Minuten bei 37°, bleiben hierauf bei nicht einwandfreiem Ergebnis noch ca. 1 Stunde bei Zimmertemperatur zur weiteren Beobachtung und werden dann bis zum nächsten Tage im Eisschrank aufbewahrt, worauf unter kritischer Würdigung der gegebenen Befunde die definitive Beurteilung erfolgt.“ Als Reaktion bei der Schichtprobe sollen „nur jene ringförmigen Trübungen angesehen werden dürfen, die aus einem deckfarbenen weißgrauen Präzipitat in Scheibenform bestehen, während die durchsichtigen lackfarbenen, sich langsam abtönenden Ringe, die häufig beim Zusammentreffen heterologer Flüssigkeiten von verschiedener Färbung und Konzentration zu beobachten sind, als Reaktionen nicht angesprochen werden dürfen.“ Als Besonderheit bei der Untersuchung von Serum aus den ersten Anfangsstadien der Rotzinfektion hebt Müller das Auftreten von Doppelringen bei der Schichtprobe hervor. „Der Doppelring kann aber nur dann als spezifisch angesehen werden, wenn derselbe bei exakter Ueberschichtung eines Serums ständig in Erscheinung tritt und zwischen den beiden Ringen eine völlig klare, ganz schmale Flüssigkeitsschicht von ca. $^1/_2$—1 mm Breite sich befindet.“ Im weiteren beschränkt sich Müller nicht darauf, nur typische Ringbildung zu konstatieren, sondern achtet auch auf die nach 24 Stunden eintretenden charakteristischen Erscheinungen: schleierartige Präzipitatablagerung am Boden der Eprouvette und völlige Aufhellung der Flüssigkeit. Als Kontrollen dienen: Normalserum + Filtrat, Normalserum + physiologische NaCl-Lösung und Rotzserum + physiologische NaCl-Lösung, welche keine oder schwache Trübungen ohne Präzipitatbildung und Aufhellung nach 24 Stunden geben dürfen. Mangels rotzkranker Pferde hat Müller seine Untersuchungen mit dem Serum infizierter Meerschweinchen und Kaninchen ausgeführt.

Methode von Koneff:

Neuerdings hat Koneff als Antigen für die Präzipitationsprobe ein Präparat vorgeschlagen, welches er „Malease" nennt und in folgender Weise darstellt. Eintägige Agarrotzkulturen werden mit 3-proz. Antiforminlösung (10 ccm pro Kulturröhrchen) abgeschwemmt, sorgfältig geschüttelt und 24 Stunden bei 38—40° C gehalten. Die erhaltene Lösung wird mit 5-proz. Schwefelsäure — unter Benutzung von Lackmustinktur als Indikator — neutralisiert, zur Entfernung des Chlors nochmals auf 24 Stunden in den Thermostaten gestellt und darauf sukzessive durch Fließpapier und durch Berkefeldkerzen filtriert. Aus dem Filtrat kann durch Austrocknen bei 40° ein lange haltbares Pulver gewonnen werden, welches vor dem Gebrauch in destilliertem Wasser (die Hälfte des Volums des ursprünglichen Filtrates) gelöst und von neuem filtriert wird. Das Produkt ist eine klare, leichtgelbliche Flüssigkeit mit schwachem Chlorgeruch. Koneff füllt ca. 1 ccm seiner Malease in Glasröhrchen von 3—4 mm Durchmesser und 15 cm Länge. Hierauf schichtet er ungefähr das gleiche Quantum des zu untersuchenden Serums nicht über das Antigen, sondern unter dasselbe. Zu diesem Zwecke bedient er sich feiner Glaspipetten, welche er bei geschlossenem oberen Ende durch die Malease hindurch bis auf den Boden des Röhrchens führt und nach erfolgter Unterschichtnug ebenso wieder herauszieht. Das Serum von Pferden mit schwerem Rotz gab momentane Bildung eines Präzipitationsringes; in leichten Fällen bildete sich ein solcher erst nach 5—15 Minuten. Dagegen blieb bei Benutzung von Serum gesunder bzw. an anderen Krankheiten leidender Pferde während der gleichen Beobachtungsdauer die Berührungsfläche der beiden klaren Flüssigkeiten ungetrübt sichtbar.

Nach Wladimiroff gehört die Präzipitinmethode schon jetzt zu den wertvollsten serodiagnostischen Hilfsmitteln. Bei chronischem Rotz halten Koneff, Miessner die Methode für nicht ganz zuverlässig. Pfeiler ist es gelungen, schon 4—5 Tage nach der Infektion Präzipitine im Serum nachzuweisen, so daß er in bezug auf Verwertbarkeit der Reaktion sagt: „Die Präzipitation hat frische Fälle immer ermittelt, auch hat sie sich bei der Erkennung zweifelhafter älterer Fälle bewährt.

Serumdiagnose des Milzbrandes.

Für die Diagnose des Milzbrandes haben A. Ascoli[135] und Valenti eine besondere Präzipitinmethode ausgearbeitet.

Die Präzipitinreaktion läßt sich mit Organen der verschiedenen Tierarten ausführen. Unerläßlich ist ein hochwertiges Präzipitin. Die Ausführung der Reaktion erfolgt nach den Angaben Ascolis in folgender Weise:

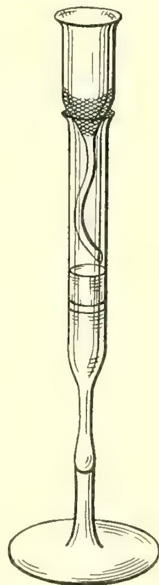
Für die Präzipitinreaktion sind ausschließlich solche Milzbrandsera zu benutzen, welche bei Anstellung der Schichtprobe eine sofortige Trübung an der Berührungsstelle zwischen Milzbrandextrakt und Serum bewirken. Das Serum soll mit 2 Extrakten in physiologischer Kochsalzlösung, von denen das eine aus einer Milzbrandkultur auf Agar, das andere aus einer Milz (eines milzbrandinfizierten

Tieres) hergestellt ist, auf seine Wirksamkeit geprüft werden. Diese Extrakte, deren nähere Herstellungsweise weiter unten beschrieben wird, sollen mit dem spezifischen Immunserum sofort die für die Schichtprobe charakteristische ringförmige Trübung geben, hingegen mit dem entsprechenden Normalserum wenigstens $^1/_4$ Stunde lang vollkommen klar bleiben. Diese Kontrollprobe darf nicht unterbleiben, weil die Extrakte, welche in der Regel sowohl mit normalem, als auch mit Immunserum (Diphtherie-, Tetanus-, Dysenterie-, Pneumokokken-, Typhus-, Coli-, Rotlauf-, Druseserum) vollkommen klar bleiben, ausnahmsweise, wenn sie zu stark konzentriert sind, namentlich mit frischem Serum eine ringförmige Trübung geben können. Durch entsprechende Verdünnung oder Herstellung eines Extraktes von normaler Konzentration wird diesem Uebelstande, der schon Bail irregeführt hat, abgeholfen; aber gerade wegen dieser Fehlerquelle ist die Kontrollprobe mit Normalserum unerläßlich.

Zur Herstellung der zur Prüfung des Serums dienenden Extrakte braucht man eine 24-stündige üppige Milzbrandkultur auf Schrägagar und die Milz eines an Milzbrand eingegangenen Tieres (z. B. eines Meerschweinchens). Den Bakterienextrakt stellt man in der Weise her, daß man die Kulturmasse in 5—6 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufschwemmt und nach 2-stündiger Extraktion bei Zimmertemperatur filtriert. Zur Bereitung des Milzauszuges werden 2—3 g der fein zerriebenen Pulpa zwecks Entfärbung mit 10 ccm Chloroform durchmengt und etwa 5 Stunden lang bei Zimmertemperatur in Berührung gelassen; nach Dekantierung des überschüssigen, d. h. nicht verdampften oder absorbierten Chloroforms wird der Brei mit 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung extrahiert und nach 2 Stunden filtriert. Beide Extrakte sollen tunlichst schwach gefärbt und vollkommen klar sein; die Aufhellung ist mittels Filtration durch Papier, Asbest- oder Berkefeldfilter leicht zu erreichen. Sowohl das Immun- als auch das Normalserum sind auf gleiche Weise oder durch Zentrifugieren zu klären.

Nunmehr kann an die Ausführung der Probe geschritten werden, indem man jedes der beiden Extrakte einerseits mit Immunserum, andererseits mit Normalserum unterschichtet. Ein Milzbrandserum ist nur dann als zweckentsprechend anzusehen, wenn die Schichtprobe mit ihm sofort positiv ausfällt, mit Normalserum nach 15 Minuten bei Zimmertemperatur noch negativ ist. Mit einem derartig kontrollierten Serum gestaltet sich die Untersuchung verdächtigen Materials höchst einfach; es wird in der beschriebenen Weise ein möglichst farbloses und vollkommen klares Extrakt hergestellt und dasselbe mit Immun- und Normalserum unterschichtet. Der Ausfall der Probe wird genau so beurteilt, wie oben angegeben, d. h. bei Auftreten der ringförmigen Trübung bloß mit Immunserum als positiv, bei Ausbleiben jeder Trübung in beiden Röhrchen als negativ angesprochen. In Ausnahmefällen, wenn im Material milzbrandähnliche mit dem Präzipitin reagierende Keime enthalten sein sollten, kann trotzdem durch entsprechende Verdünnung der Extrakte eine Entscheidung getroffen werden, weil die Reaktion mit milzbrandigem Material bei 1:10—50—100 noch positiv ausfällt, mit nicht milzbrandigem hingegen ausnahmslos negativ.

Für den praktischen Tierarzt ist jedoch das Verfahren in dieser Form zu umständlich und auf die Hauptreaktion zu beschränken, zumal bei dem frischen Material die Fehlerquellen, gegen die der Bakteriologe anzukämpfen hat, wegfallen. Die Untersuchungsstationen sollen dafür Sorge tragen, daß dem Tierarzte jederzeit ein hochwirksames, kontrolliertes, klares Serum zur Verfügung steht. Außerdem wären ihm ein besonderes Asbestfilter zur Klärung des Extraktes, ein mit Fußgestell versehenes Reagenzröhrchen und ein paar Pasteursche Pipetten zu liefern (siehe Fig. 1). Mit Hilfe dieser leicht herstellbaren Glassachen kann die Reaktion von jedermann ausgeführt werden, da die Reagentien, Chloroform und physiologische Kochsalzlösung, ein Porzellanmörser, ein Reagenzröhrchen, ein Glastrichter, ein Papierfilter leicht zu beschaffen sind.


Fig. 1.

Zur Ausführung der Präzipitinprobe hat man bloß 1—2 g Milzpulpa, resp. des zur Untersuchung dienenden milzbrandigen Materials zu nehmen, im Mörser zu zerreiben und mit etwa 10 ccm Chloroform gut durchzurühren; nach 4—5 Stunden gießt man das überschüssige Chloroform ab, versetzt den Brei mit 5—10 ccm physiologischer Kochsalzlösung und mischt gut durch; nach ein paar Stunden filtriert man die Masse durch Papier in ein Reagenzglas und klärt das Filtrat, indem man es auf das Asbestfilter gießt. Nach höchstens einer Stunde hat sich im konischen Ende des letzteren eine hinreichende Menge des klaren, zur Probe fertigen Extraktes angesammelt. Mittels einer der beiden Pasteurschen Pipetten, deren Spitze durch die Oeffnung oberhalb des konischen Bodens eingeführt wird, entnimmt man unter entsprechender Neigung des Asbestfilters wenige Tropfen des Extraktes, um sie in das mit Fußgestell versehene Reagenzröhrchen zu übertragen. In die andere Pipette saugt man 5—10 Tropfen des präzipitierenden Serums ein, schließt rasch mit dem Finger das obere Ende der Pipette und schichtet das Serum langsam und vorsichtig unter das Extrakt. Wenn Milzbrand vorlag, erscheint an der Berührungsfläche zwischen Serum und Extrakt eine ringförmige Trübung. Zur Abkürzung des Verfahrens kann die Extraktion des Materials vor seiner Entfärbung mit Chloroform versucht und die Klärung des Extraktes durch langsames Zentrifugieren des Asbestfilters beschleunigt werden.

Für den Praktiker eignet sich am besten folgende Methode, die unter Verwertung der Thermostabilität der präzipitablen Substanz einfach und rasch zum Ziele führt: Aufschwemmung von etwas Milzpulpa in physiologischer Kochsalzlösung (5—10 Volum) — Aufkochen einige Minuten — Filtration durch Papier oder Asbest — Schichtprobe nach dem Erkalten.

Am besten wird es wohl sein, wenn der Tierarzt das abgekürzte Verfahren an Ort und Stelle versucht und gleichzeitig etwas Milzbrandmaterial oder Blut in einem reinen Gefäße gut verpackt zur Nachprüfung einsendet.

Diese Thermopräzipitinmethode hat bisher in allen Fällen mit den Ergebnissen der mikroskopischen Untersuchung übereinstimmende Resultate geliefert und sich ebenfalls an verfaultem Material bewährt, wenn die sonstigen Verfahren schon versagten. Die Kontrollproben an nicht milzbrandigem Material sind negativ ausgefallen, und die Untersuchungen an verdächtigem Material sind ebenfalls dem Resultate der übrigen Untersuchungsmethoden entsprechend ausgefallen, so daß die Thermopräzipitinmethode nicht nur bei Nachprüfungen empfehlenswert erscheint, sondern auch in den Schlachthäusern sich einbürgert, wo sie bei tot eingelieferten Tieren, dann bei Notschlachtungen, überhaupt in allen nur bloß verdächtigen Fällen ausgeführt werden sollte*).

Serumdiagnose der Meningitis cerebrospinalis epidemica.

Vincent und Bellot[136] haben die Präzipitinreaktion zur Diagnose der Cerebrospinalmeningitis epidemica (Weichselbaum) empfohlen. Die Lumbalflüssigkeit wird klar zentrifugiert und zu 50 bis 100 Tropfen wird je 1 Tropfen Meningokokkenserum zugesetzt, nach 8—12 Stunden bei 50—53° trübt sich die Flüssigkeit. In normaler Spinalflüssigkeit oder solcher von andersartiger Meningitis tritt keine Trübung auf. Vincent hat diese Probe bei 61 Kranken studiert, und er fand, daß dieselbe schon 11—13 Stunden nach Ausbruch der Krankheit positiv ausfällt und nach 12—20 Tagen versagt. Diese Reaktion fiel auch in denjenigen Fällen positiv aus, bei denen die mikroskopische und kulturelle Untersuchung versagt hatte. Die Nachprüfung hat eine Bestätigung dieser Befunde ergeben (Lemoine[137], Gählinger & Tilmant, Letulle & Lagane[138], Salebert & Louis[139], Keller & Debré). Nicht alle Meningokokkensera geben gleichmäßige Resultate.

Aber nicht nur bacilläre Erkrankungen, sondern auch solche parasitären Ursprungs gestatten die Anwendung der Präzipitinreaktion zur Serodiagnose. Es liegen Versuche vor, mittels der Präzipitinreaktion Echinokokken (Fleig & Lisbonne, Welsh & Chapmann) und Bothriocephaluserkrankungen (Isaak & van de Velden) zu diagnostizieren.

Serumdiagnose der Bakterien (Hefen, Protozoen und Parasiten) mittels Präzipitine.

Vibrionen.

In verschieden alten Bouillonkulturen (8-tägige und ältere) und in 2-tägigen Bouillon- und Kochsalzextrakten des Vibrio cholerae erzeugt Choleraserum typische Niederschläge. In Filtraten von Vibrionen, z. B. Vibrio Nasik, Finkler-Prior, Deneke, Metschnikoff, Danubicus, Elvers u. a. erzeugt Choleraserum entweder gar keine Niederschläge oder nur spärliche Flocken. Es entspricht dieses Resultat vollkommen den Agglutinationsverhältnissen mit Choleraserum.

---

*) Siehe Pfeiler, Berl. tierärztl. Wochenschr., 1911; Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde, 1912, hier Literatur. Dieser Beitrag wurde (Mai 1912) abgeschlossen, seither ist eine große Reihe bestätigender Arbeiten erschienen.

In Ergänzung dieser Versuche hat v. Eisler zeigen können, daß Choleraserum, gewonnen mit einem typischen Choleravibrio (Pfeiffer) auch in Filtraten der 6 El-Torvibrionen (Gotschlich) Niederschläge hervorruft. Umgekehrt erzeugt Serum, gewonnen mit diesen El-Torstämmen, nur in den Filtraten der El-Torstämme und Choleravibrionen Niederschläge; Filtrate andersartiger Vibrionen bleiben ebenso klar wie nach Zusatz von Choleraserum.

C. Norris erhielt durch Immunisierung von Kaninchen mit dem Choleravibrio und dem Vibrio Metschnikoff ebenfalls Präzipitine. Bei gleichen quantitativen Verhältnissen erhielt Norris durch das Serum des Vibrio Metschnikoff im homologen Filtrate mit 0,1 ccm Serum auf 0,5 ccm Filtrat noch einen reichlichen Niederschlag, während dieselbe Serummenge in 0,5 ccm Cholerafiltrat keine Reaktion mehr hervorbrachte.

Bacterium Typhi.

Zupnik hat die von mir für Filtrate der Typhusbacillen erwiesene Spezifizität der Präzipitinreaktion angezweifelt. Der Verfasser gelangte durch seine Untersuchungen zu dem Schlusse, daß man mit Hilfe der Präzipitation ebensowenig wie mit der Agglutination die einzelnen Arten dieser Gruppe unterscheiden könne und bezeichnet daher diese Reaktion als eine nicht artspezifische, sondern als eine Gruppenreaktion. Die Erklärung für dieses Versuchsergebnis wurde bereits gegeben. Unter Berücksichtigung quantitativer Verhältnisse konnte v. Eisler eine sichere Spezifizität in dem schon früher präzisierten Sinne feststellen. v. Eisler untersuchte Filtrate 14—15-tägiger Typhus-, Paratyphus A- und B- und Mäusetyphus-Bouillonkulturen mittels eines Typhusimmunserums und eines für Mäusetyphus. Es zeigte sich in diesen Versuchen, daß selbst 0,1 ccm des Typhusserums im Typhusfiltrat noch einen typischen Niederschlag erzeugte; das Typhuspräzipitin brachte in den übrigen drei Filtraten eine kaum mehr deutlich wahrnehmbare Trübung hervor. Erst 0,3 ccm dieses Serums machten in den Filtraten von Mäusetyphus und Paratyphus B Trübungen. Im gleichen Sinne fielen die Versuche mit Mäusetyphusserum aus. Auch Norris zeigt, daß ein Immunserum bei höheren Verdünnungen nur homologes Filtrat, bei niederen Verdünnungen auch Filtrate verwandter Stämme zu präzipitieren vermag. Zur Differenzierung verwandter Arten muß stets den quantitativen Verhältnissen Rechnung getragen werden, ebenso wie dies für Agglutinine Gültigkeit hat.

Bacterium coli.

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß die für die Agglutination des B. coli von Rothberger, Radziewsky, v. Wassermann u. a. ermittelten Verhältnisse auch für die Präzipitation Geltung haben.

Auch hier zeigte sich, daß diejenigen Colistämme, welche von dem betreffenden Immunserum nur schwach agglutiniert wurden, auch nur ganz spärliche Niederschläge lieferten. Zu denselben Resultaten gelangte Kraus auch bei der Prüfung verschiedener Paracolistämme.

Bacterium dysenteriae.

Norris[141], Dopter, Rosenthal, Lüdke, Korschun u. a. geben an, daß Dysenterieserum mit Filtraten der Kultur Niederschläge gibt. Nach Norris läßt sich durch quantitative Bestimmungen für B. typhi, coli und die verschiedenen Arten des Dysenteriebacillus eine Differenzierung durchführen. Dopter findet, daß ein Shiga-Kruse-Immunserum auch für die anderen Arten der Dysenteriebacillen Präzipitine enthält. Die durch Shiga-Serum erzeugten Niederschläge in den Kulturfiltraten des B. Flexner und Pseudodysenteriebacillus waren weniger reichlich als in homologen Kulturfiltraten.

v. Eisler hat dieselben Verhältnisse mit der Präzipitinreaktion angetroffen, wie sie mittels Agglutination erhoben werden. In Shiga-Kruse-Filtraten gab Shiga-Kruse-Serum massige Niederschläge, weniger reichlich das Serum Flexner. In Filtraten des B. Flexner bildeten beiderlei Sera, am stärksten das Flexner-Serum, Niederschläge. Es entsprechen diese Beobachtungen vollkommen den mittels Agglutination ermittelten.

Kapselbacillen.

Porges und v. Eisler[142] haben es unternommen, auch mit Hilfe der bisher für Kapselbakterien noch nicht verwendeten Präzipitationsmethode, dieselben zu differenzieren. Die sehr wechselnde Agglutinabilität verschiedener Stämme der Kapselbakterien bildet für die Differentialdiagnose mittels Agglutination gewisse Schwierigkeiten. Untersucht wurden Bacterium pneumoniae Friedländer, Rhinosklerom und Ozaena. Die betreffenden Immunsera wurden von Kaninchen durch subkutane Injektion von Kochsalzagaraufschwemmungen (erhitzt) gewonnen. Es wurde jedesmal der Inhalt eines Agarröhrchens injiziert. Nach 4—5 Injektionen lieferten die Tiere meistens ein brauchbares Serum. Das Präzipitinogen wurde sowohl aus ca. ein Monat alten Bouillonkulturen als auch aus Kochsalzagarfiltraten gewonnen. Die Bouillonfiltrate gaben mit dem Präzipitin reichlichere Niederschläge als die Kochsalzagarfiltrate. Auf diese Weise wurde für alle drei erwähnten Arten der Kapselbakterien deutliche Präzipitation festgestellt und konnten dieselben bei Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse ohne weiteres voneinander unterschieden werden. Das Verhältnis des Serums zum Filtrat wurde in allen Versuchen von 3:20 oder 1:20 gewählt.

Tabelle a.

	Ergebnis nach 24 Std.
2 ccm Friedl.-Filtrat + 0,3 ccm Friedl.-Serum	starker Niederschlag
2 „ „ + 0,1 „ „	spärliche Flocken
2 „ Rhinosklerom-Filtrat + 0,3 „ „	leichte Trübung
2 „ „ + 0,1 „ „	θ
2 „ Ozaena-Filtrat + 0,3 „ „	θ
2 „ „ + 0,1 „ „	θ
2 „ 0,85-proz. Kochsalzlös. + 0,3 „ „	θ
2 „ Friedl.-Filtrat + 0,3 „ 0,85-proz. Kochsalzlös.	θ

				Ergebnis nach 24 Std.

Tabelle b.

2 ccm	Ozaena-Filtrat	+ 0,3	ccm Ozaena-Serum	mäßig. Niederschlag
2 „	"	+ 0,1	" "	deutl. Niederschlag
2 „	Rhinosklerom-Filtrat	+ 0,3	" "	Spur von Trübung
2 „	"	+ 0,1	" "	θ
2 „	Friedl.-Filtrat	+ 0,3	" "	θ
2 „	"	+ 0,1	" "	θ
2 „	0,85-proz. Kochsalzlös.	+ 0,3	" "	θ
2 „	Ozaena-Filtrat	+ 0,3	„ 0,85-proz. Kochsalzlös.	θ

Tabelle c.

2 ccm	Rhinosklerom-Filtrat	+ 0,3	ccm Rhinosklerom-Serum	deutl. Niederschlag
2 „	"	+ 0,1	" "	spärl. Niederschlag
2 „	Friedl.-Filtrat	+ 0,3	" "	Trübung
2 „	"	+ 0,1	" "	θ
2 „	Ozaena-Filtrat	+ 0,3	" "	θ
2 „	"	+ 0,1	" "	θ
2 „	0,85-proz. Kochsalzlös.	+ 0,3	" "	θ
2 „	Rhinosklerom-Filtrat	+ 0,3	„ 0,85-proz. Kochsalzlös.	θ

Friedländer-Serum gab mit dem homologen Filtrat starke Niederschläge, mit Rhinosklerom bloß Trübung, mit Ozaena gar keine Reaktion. Ozaena-Serum gab mit Ozaena-Filtrat mäßige Niederschläge, mit Rhinosklerum nur leichte Trübung, mit Friedländer nicht einmal Trübung. Das Rhinosklerom-Serum erzeugt mit dem homologen Filtrate wieder deutliche Niederschläge, mit Friedländer nur spärliche Flocken, mit Ozaena keine Reaktion. Bei der Agglutination ergaben sich ungefähr dieselben Resultate, es war häufig Mitagglutination zu beobachten, jedoch wurde der homologe Stamm in höheren Verdünnungen agglutiniert als der verwandte.

Tuberkelbacillen.

Um in Kulturfiltraten von Tuberkelbacillen spezifische Niederschläge zu erhalten, hat Kitajama[144] folgendes Verfahren angewendet. Er kultiviert Tuberkelbacillen in 0,75- bis 1-proz. neutraler Lösung von Liebigs Fleischextrakt mit 1,5 Proz. Peptonzusatz. Diese Kulturen bleiben 4—5 Wochen lang im Brutschrank. Nach dieser Zeit werden die Kulturen eine Stunde im Kochschen Topf erhitzt und dann filtriert. Zum Filtrat wird 0,5 Proz. Karbol zugesetzt. Die Stammflüssigkeit wird mit 0,85-proz. Kochsalzlösung, die 0,5 Proz. Karbol enthält, 5-fach verdünnt, so daß sie fast farblos wird. Setzt man zu dieser Flüssigkeit das zu untersuchende Serum, so entsteht, wenn dasselbe vom Tuberkulösen herrührt, nach einigen Minuten langem bis 24-stündigem Aufenthalt im Brutofen ein Niederschlag. Dieser Niederschlag ist nach dem Verfasser der Agglutination gleichzustellen.

Neufeld[143a] hat mit Filtraten aus Tuberkelbacillen und Serum hoch immunisierter Tiere Niederschläge erhalten.

Testflüssigkeit, nach W. G. Ruppel und W. Rickmann[143] hergestellt.

0,1 g zerriebene Tuberkelbacillen, gezüchtet auf eiweißfreiem Nährboden, wurden mit 100 ccm destilliertem Wasser 24 Stunden lang im Schüttelapparat mit Glasperlen verarbeitet. Das Gemisch wurde sodann 15 Minuten lang bei 3000 Touren zentrifugiert, die abgehobene Flüssigkeit mehrmals durch Papier und schließlich durch eine Berkefeld-Kerze filtriert, so daß eine absolut klare Testflüssigkeit erhalten wurde. Nach Bestimmung des Gehalts an spezifischer Trockensubstanz wird durch Hinzufügen von Kochsalz der physiologische Salzgehalt eingestellt. Es ist erforderlich, derartige Testflüssigkeiten stets frisch zu bereiten, da dieselben eine verhältnismäßig geringe Haltbarkeit besitzen, indem selbst beim Aufbewahren im Eisschrank Trübungen und Niederschläge in den Extrakten aufzutreten pflegen.

Bei der Anstellung der Reaktion verfahren Ruppel & Rickmann in der Weise, daß sie gleichbleibende Serummengen mit fallenden Mengen der Testflüssigkeit in Spitzgläschen überschichten. Nach einer gewissen Zeit äußert sich die positive Reaktion in einer Ringbildung. Nachdem der Ring aufgetreten ist, wird das Röhrchen durchgeschüttelt und nach weiterem 2-stündigem Aufenthalt bei 37 ° im Kühlkasten 12 Stunden stehen gelassen. Mit einem wirksamen Serum konnte noch in 100-facher Verdünnung der Testflüssigkeit deutliche Präzipitation beobachtet werden.

Neben der angeführten Methode der Auswertung wird von Ruppel & Rickmann noch eine Anordnung angegeben, bei welcher die Serummenge bei gleichbleibender Menge Testflüssigkeit variiert.

Wegen des quantitativen Verlaufes der Reaktion wollen die Autoren dieselbe zur Wertbemessung des Tuberkuloseeiweißserums verwerten.

Eine Differenzierung des Typ. humanus und bovinus mittels Präzipitinen gelingt nicht, wie aus der Tabelle von Ruppel & Rickmann ersichtlich ist.

	Nur mit Typus humanus vorbehandelt		Nur mit Typus bovinus vorbehandelt		Mit Typus humanus u. bovinus vorbehandelt	Nicht vorbehandelt	
	Serum Pferd 1	Serum Maultier 3	Serum Pferd 2	Serum Maultier 4	Serum Maultier 1	Norm. Pferd	Norm. Maultier
Tb.-(Typus hum.-)Extrakt 1 ccm (0,002 g Trockengehalt)	0,2 ccm R = 2′ +++	0,2 ccm R = 0 —	0,2 ccm R = 5′ +++	0,2 ccm R = 10′ +	0,2 ccm R sofort +++++	0,2 ccm R = 0 —	0,2 ccm R = 0 —
Tb.-(Typus bovin.-)Extrakt 1 ccm (0,003 g Trockengehalt)	0,2 ccm R = 1′ ++++	0,2 ccm R = 0 —	0,2 ccm R = 2′ ++++	0,2 ccm R = 5′ ++	0,2 ccm R sofort ++++++	0,2 ccm R = 0 —	0,2 ccm R = 0 —

In dieser Tabelle bedeutet:

R = 2′ Ringbildung nach 2 Minuten.
R = 0 keine Ringbildung.
— keine
\+ geringe
++ mäßige
+++ starke
++++ sehr starke
} Niederschlagsbildung.

Bacterium mallei (S. 772).

Bei der Besprechung der Serodiagnose der Rotzkrankheit der Pferde wurden die Methoden (PFEIFFER, MIESSNER, MÜLLER) l. c. besprochen, so daß hier nur darauf verwiesen wird.

Bacterium pestis bub.

In meiner ersten Mitteilung über Präzipitine ist gezeigt worden, daß ein Immunserum in Filtraten aus Bouillonkulturen und Extrakten aus Agarkulturen von Pestbacillen Niederschläge erzeugt.

MARKL[145] hat später Filtrate einer Reihe verschiedener Peststämme, Pg, Roux, London, untersucht und konnte diese Angaben bestätigen.

Bacterium diphtheriae.

Nach Versuchen von SCHWONER[146] gelingt es nicht leicht, aus Diphtheriebakterien, obwohl deren Agglutination keinen Schwierigkeiten unterliegt, Präzipitinogen zu gewinnen. SCHWONER gelang es, sowohl in Bouillon- als in Kochsalzagarfiltraten Niederschläge zu erhalten.

Kulturen der Pseudodiphtheriebakterien gaben nach SCHWONER nur in Kochsalzagarfiltraten, nicht aber in Bouillonfiltraten Präzipitation.

WASSERMANN[147] immunisierte Kaninchen statt mit Diphtheriebakterien mit 0,1-proz. Aethylen-Diamin-Extrakten aus Bakterien, die bei 60° getrocknet und dann pulverisiert wurden. Die toxischen Eigenschaften dieser Extrakte hob er durch Zusatz von Antitoxin auf. Der Vorteil dieser Methode liegt nach WASSERMANN darin, daß man dem Tiere größere Mengen von Präzipitinogen einführen kann. Ein mit diesen Extrakten gewonnenes Immunserum erzeugte in dem klaren Aethylen-Diamin-Auszug der Bakterien eine Trübung und nach einiger Zeit einen Niederschlag.

Bacterium prodigiosum, pyocyaneum, Proteus.

NORRIS konnte durch Immunisierung von Kaninchen Immunsera gewinnen, welche mit Filtraten dieser im Titel angeführten Bakterien spezifisch reagierten.

Staphylococcus.

Bei Staphylokokken erhielt NORRIS mit Kaninchenimmunserum in Filtraten von Bouillonkulturen Niederschläge.

Mit Staphylokokken gelang es auch v. EISLER, positive Resultate zu erzielen. Das Präzipitin wurde von einer Ziege durch Injektion von auf 60° erhitzten Bouillonkulturen gewonnen. Dieses Serum agglutinierte Staphylokokken bis 1:200 und erzeugte in Bouillonfiltraten dieser Kokken deutliche Niederschläge.

Meningococcus intracellularis (Weichselbaum).

Nach Zusatz von Meningokokkenserum zu Filtraten aus Agarextrakten treten deutliche grobflockige Niederschläge auf.

Dopter[148] zeigt, daß auch bei dieser Reaktion, genau so wie bei der Agglutination, eine Mitpräzipitation zu beobachten ist (Coprécipitines). Auch in Filtraten von Gonokokken, Pseudomenigokokken, sogar Pneumokokken, sind Niederschläge entstanden.

Auch eigene Versuche zeigen einen Parallelismus zwischen Agglutination und Präzipitation insofern, als nur die agglutinablen Meningokokkenstämme Filtrate lieferten, welche mit Immunserum auch Niederschläge gaben.

Pneumococcus.

Ueber Pneumokokkenpräzipitation liegen zahlreiche Versuche vor. Neufeld[149] bewirkte durch frische Galle eine Lösung der Pneumokokkenleiber, indem er zu mehreren Kubikzentimetern Bouillonkultur einen Tropfen Galle zusetzte. In einer solchen Lösung gab ein Pneumokokken agglutinierendes Kaninchenserum typische Niederschläge. Normales Kaninchenserum war wirkungslos. Wodsworth hat nicht nur nach Zusatz von Galle zu Pneumokokkenkulturen, sondern auch mit filtrierten Kochsalzextrakten Niederschläge erhalten. Nach seiner Angabe erzeugen auch verschiedene Normalsera Niederschläge.

Panichi[150] immunisierte Tiere mit Pneumokokkenkulturen, die in Tizzonischer Bouillon gewachsen waren. Das Serum dieser Tiere gab mit Filtraten von Pneumokokkenkulturen aus Tizzonischer oder gewöhnlicher Bouillon Niederschläge. Die gewöhnliche Bouillon eignet sich jedoch für Präzipitationsversuche aus Pneumokokken besser als die Tizzonische, weil die sauere Reaktion der gewöhnlichen Bouillon die Präzipitation befördert, während in der Tizzonischen Bouillon die Reaktion alkalisch bleibt. Das präzipitierende Serum wird von Kaninchen, Hammeln und Eseln gewonnen.

Heyrowsky[151] kultivierte zum Zwecke der Präzipitation Pneumokokken in 1-proz. Traubenzuckerbouillon. Er ließ solche Kulturen 12—20 Stunden im Brutschrank und hierauf einige Tage bei Zimmertemperatur stehen. Nach dieser Zeit löst sich die diffuse Trübung der Bouillon auf Zusatz von wenig Natronlauge vollständig, während sie bei einer zwölfstündigen Kultur auch durch große Mengen Lauge nicht gelöst wird. Die so behandelte Bouillonkultur wird mit Salzsäure neutralisiert. Mit dieser klaren Lösung gelang die Präzipitation leicht. Auch filtrierte Traubenzuckerbouillonkulturen geben die Reaktion, wenn auch die Niederschläge weniger voluminös ausfielen. Bei Filtraten aus gewöhnlichen Bouillonkulturen gelang die Präzipitation nicht.

Streptococcus.

Marmorek[152] hat als erster Niederschläge in Streptokokkenkulturfiltraten beschrieben.

Aronson[153] konnte in Filtraten aus Streptokokkenbouillonkulturen keine Niederschläge beobachten. Nach Extraktion der Kokken mit 1-proz. Aethylendiaminlösung erhielt er positive Resultate.

v. Eisler sah erst nach Konzentrierung der Filtrate mit Immunserum Trübungen entstehen.

Hefe.

Schütze[154] konnte mit einem Immunserum Niederschläge in Filtraten aus Hefekulturen erzeugen und versuchte eine Differenzierung

der Hefearten durchzuführen. SCHÜTZE verwendete zur Immunisierung nicht Preßsäfte aus Hefe, weil in diesen durch die Enzyme das Eiweiß verdaut wird, sondern er rührte die Hefe mit Kochsalz und $^1/_4$-proz. Sodalösung zu einer dicken Pasta an, die er dann mit feinem Glasstaub und Seesand verrieb. So bekam er aus der dicken Masse eine leichtflüssige Emulsion. Diese wurde eine halbe Stunde geschüttelt und hierauf zentrifugiert, so daß über dem, die zusammengeballten Zellmembranen und den Glasstaub enthaltenden Bodensatz, eine stark eiweißhaltige Flüssigkeit gewonnen wurde, die mikroskopisch keine cellulären Elemente mehr enthielt. Von einer solchen Emulsion wurden Kaninchen ca. 100 ccm im Verlaufe von zwei Monaten injiziert. Es wurden Kaninchen mit vier verschiedenen Hefearten immunisiert. Jedes Immuserum gab mit allen vier Hefearten Niederschläge. Ebenso gelang es SCHÜTZE nicht, mittels Agglutination diese Hefearten zu unterscheiden.

Protozoën.

M. MAYER[155] beschreibt Präzipitine für Trypanosomen. Die Technik dieser Versuche war folgende: Ein Tsetse-Hund wurde am 5. Krankheitstage entblutet, das Blut durch Zusatz von Natrium citricum ungerinnbar gemacht, die Trypanosomen durch fraktioniertes Zentrifugieren, wobei sich dieselben in der oberen Partie des Blutkörperchensediments absetzen, rein gewonnen und in Kochsalzlösung aufgenommen. Diese Trypanosomenaufschwemmung wird 4 Tage lang mit Trypsin verdaut behufs besserer Auflösung der Trypanosomen, besonders der Kernsubstanz, und dann filtriert. Das Serum eines Tsetse-Hundes erzeugte in einem solchen Filtrate Trübung und darauf einen dichtflockigen Niederschlag; bei Zusatz eines Mal de Caderas-Hundeserums blieb das Filtrat vollkommen klar, so daß die Reaktion als spezifisch anzusehen ist.

Parasiten

(Taenia mediocanellata, solium, cucumerina, Echinokokken).

FLEKSEDER und v. STEYSKAL[156] haben mit Proglottiden der Taenia solium, LANGER[157] mit Taenia solium, cucumerina Präzipitine gewonnen.

Abgeschlossen im Mai 1911.

Literatur.

Die Grundlagen über Präzipitine:

Kraus, R., Ueber spezifische Reaktionen in keimfreien Filtraten aus Cholera-, Typhus-, Pestbacillenkulturen, erzeugt durch homologes Serum. Wiener klin. Wochenschr., **1897**, Nr. 32.

Tchistowitch, Études sur l'immunisation contre le sérum d'anguille. Ann. Pasteur, **1899**, 406.

Bordet, J., Sur l'agglutination et dissolution des globules rouges. Ann. Pasteur, **1899**, 173.

Eine ausführliche Behandlung der Verwertbarkeit der Präzipitinreaktion findet sich in den Monographien von Uhlenhuth und Weidanz, „Praktische Anleitung zur Ausführung der biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahren", Jena, G. Fischer, **1909** und Technik und Methodik des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens, Handb. Kraus und Levaditi, Bd. 2, **1909**.

Außerdem sei verwiesen auf die Monographien:

Nuttall, G. H. F., Blood Immunity. London, C. J. Clay & Sons, **1904**.

Rostoski, Zur Kenntnis der Präzipitine. Würzburg, A. Huber, **1902**.

Michaelis, L., Die Präzipitine. Handb. d. Biochemie von Oppenheimer, Bd. 2, 552. Jena, G. Fischer, **1910**.

v. Eisler, M., Ueber Bakterienpräzipitine. Handb. d. Techn. u. Meth. der Immunitätsforschung von Kraus und Levaditi. Jena, Fischer, **1909**.

Leers, O., Berlin, R. Schoelz, **1908**.

Einleitung.

1. Kraus, R., Ueber spezifische Reaktionen in keimfreien Filtraten aus Cholera-, Typhus-, Pestbacillenkulturen, erzeugt durch homologes Serum. Wiener klin. Wochenschr., **1897**, Nr. 32.
   — Ueber biologische Reaktionen. Monatsschr. f. Gesundheitspfl., **1902**, Nr. 7 u. 8.
   — Ueber diagnostische Verwertbarkeit der spezifischen Niederschläge. Wiener klin. Wochenschr., **1901**, Nr. 29.
2. Nicolle, Recherches sur la substance agglutinée. Ann. Pasteur, **1898**, 161.
3. Wladimiroff, Ueber Agglutination bakterienfreier Filtrate von Rotzkulturen. St. Petersb. med. Wochenschr., **1898**.
4. Noris, C., The bacterial precipitins. The Journal of infectious diseases, **1904**, Vol. 1, Nr. 3.
5. Dediulin, Zur Serumdiagnose des Rotzes. Bote f. öffentl. Veterinärwesen, **1900** (russ.).
6. Pfeiler, W., Die Serodiagnose der Rotzkrankheit. Zeitschr. f. Infektionskrankh. u. Hyg. der Haustiere, Bd. 7, **1910**.
7. Miessner, Die Verwendung der Präzipitation in Form der Schichtungsmethode zur Diagnostik der Rotzkrankheit. Centralbl. f. Bakt., Bd. 51, **1909**.
8. Ascoli, Alberto, Die Präzipitindiagnose bei Milzbrand. Centralbl. f. Bakt., Bd. 58, **1911**.
9. Bonome, Präzipitinreaktion als diagnostisches Mittel der Tuberk. und zur Differenzierung zwischen Menschen- und Rindertuberkulose. Centralbl. f. Bakt., Bd. 43, **1907**.
10. Fornet, Schereschewsky, Eisenzimer & Rosenfeld, Spezifische Niederschläge bei Lues, Tabes und Paralyse. Dtsche med. Wochenschr., **1907**, Nr. 41.
    — Die Präzipitinreaktion. Münchn. med. Wochenschr., **1906**.
    — Ueber moderne Serumdiagnostik; mit besonderer Berücksichtigung der Präzipitine und Opsonine. Münchn. med. Wochenschr., **1908**, Nr. 4.
11. Gaethgens, Ueber die Typhusantigene und ihre Antikörper. Centralbl. f. Bakt., Bd. 48, **1908**.
12. Kraus & Joachim, Ueber Beziehungen der präzipitinogenen Substanz zum Agglutinogen der Bakterien. Centralbl. f. Bakt., **1904**.
    Kraus & v. Pirquet, Weitere Beiträge über spezifische Niederschläge. Centralbl. f. Bakt., **1902**.
13. Tchistowitch, Études sur l'immunisation contre le sérum d'anguille. Ann. Pasteur, **1899**, 406.

14. BORDET, Sur l'agglutination et dissolution des globules rouges. Ann. Pasteur, **1899**, 173.
15. FISH, Studies on lactoserum and other Cellsera. Cour. of med. St. Louis, **1900**.
16. MORGENROTH s. EHRLICH, Croonian lecture. Proceed. of the R. Soc., **1900**.
17. WASSERMANN & SCHÜTZE, Dtsche med. Wochenschr., **1900**, Nr. 30.
—, Ueber eine neue forensische Methode zur Untersuchung von Menschen- und Tierblut. Berl. klin. Wochenschr., **1901**, Nr. 7; Physiol. Ges., Berlin, 8. Febr., **1901**.
— Ueber die Entwicklung der biologischen Methode zur Unterscheidung von menschlichem und tierischem Eiweiß mittels Präzipitin. Dtsche med. Wochenschrift, **1902**, Nr. 27.
— Ueber die Spezifität der Eiweiß präzipitierenden Sera und deren Wertbemessung für die Praxis. Deutsche med. Wochenschr., **1903**. Nr. 11.
18. MYERS, Ueber Immunität gegen Proteide. Centralbl. f. Bakt., Bd. 28, **1900**; On immunity against proteids. The Lancet, **1900**, Vol. 2, 98—100.
19. NOLF, Contribution à l'étude des sérums antihémolytiques. Ann. Pasteur, **1900**, 297.
20. JACOBY, Ueber die chemische Natur des Ricins. Arch. f. exper. Path. u. Pharm., **1900**.
— Ueber Ricinimmunität. Hofm. Beitr. z. chem. Phys. u. Path., **1901**, 51.
21. KOWARSKI, Ueber den Nachweis von pflanzlichem Eiweiß auf biologischem Wege. Dtsche med. Wochenschr., **1901**, Nr. 27.
22. UHLENHUTH, Neuer Beitrag zum spezifischen Nachweis von Eiweiß auf biologischem Wege. Dtsche med. Wochenschr., **1900**, Nr. 45.
— Eine Methode zur Unterscheidung der verschiedenen Blutarten, insbesondere zum differentialdiagnostischen Nachweis des Menschenblutes. Dtsche med. Wochenschr., **1901**, Nr. 6.
— Weitere Mitteilungen über meine Methode zum Nachweis von Menschenblut. Dtsche med. Wochenschr., **1901**, 260.
UHLENHUTH, Weitere Mitteilungen über die praktische Anwendung etc. Dtsche med. Wochenschr., **1901**, Nr. 30.
— Die Unterscheidung des Fleisches verschiedener Tiere mit Hilfe spezifischer Sera und die praktische Anwendung der Methode in der Fleischbeschau. Dtsche med. Wochenschr., **1901**, Nr. 45.
— Bemerkungen zu dem Aufsatz von Kratter. Arch. f. Kriminalanthropol. und Kriminalist., **1901**, Bd. 10; **1902**.
— Zur historischen Entwicklung meines forensischen Verfahrens zum Nachweis von Blut und Fleisch mit Hilfe spezifischer Sera. Dtsche tierärztl. Wochenschr., 11. Jahrg.; Berl. tierärztl. Wochenschr., **1903**.
— Zur Lehre von der Unterscheidung verschiedener Eiweißarten mit Hilfe spezifischer Sera. Festschr. f. R. KOCH. Jena, G. Fischer, **1904**.
24. OBERMAYER & PICK, Ueber den Einfluß physikalischer Zustandsänderungen usw. Wien. klin. Wochenschr., **1902**, Nr. 22.
— Biolog.-chem. Studie über das Eiklar. Wien. klin. Rundschau, **1902**.
— Ueber die chemische Grundlagen der Arteigenheit der Eiweißkörper. Wien. klin. Wochenschr., **1906**.

Zur Nomenklatur.

25. PICK, E. P., Zur Kenntnis der Immunkörper. Hofm. Beitr. z. chem. Phys. u. Path., Bd. 1.
26. LINOSSIER, Sém. méd., T. 22.
— & LEMOIN, Sur les substances précipitantes des albumines (précipitins contenues dans certains sérums spécifiques). Compt. rend. d. l. soc. d. biol., **1902**, 85.
— Sur la spécificité des sérums précipitantes. Ibid., **1902** mars; La semaine méd., **1902**, Nr. 23.
27. CAMUS, Spécificité et condition d'action des précipitines. Compt. rend. de la soc. de biol., **1901**.
28. LEBLANC, Contribution à l'étude de l'immunité acquise. La Cellule, T. 18, **1901**.
— Nouvelle méthode pour la diagnose de sang humaine en méd. lég. (Monographie). Paris, Vigot fréres, **1903**.
29. MOLL, Ueber Blutveränderungen nach Eiweißinjektionen. Hofm. Beitr. z. chem. Phys. u. Path., Bd. 5, 12, **1903**.

30. v. Dungern, Die Antikörper. Jena, G. Fischer, **1903**.
— Bindungsverhältnisse bei der Präzipitinreaktion. Centralbl. f. Bakt., **1903**, 355.
— Spezifizität der Antikörperbildung Jena, G. Fischer, **1904**.
31. Müller, P. Th., Vergleichende Studien über Gerinnung des Kaseins durch Lab und Laktoserum. Arch. f. Hyg., Bd. 14, 126, **1902**; Münchn. med. Wochenschr., **1902**, 272.
— Weitere Studien über die Fällung des Kaseins durch Lab und Laktoserum. 2. u. 3. Mitt. Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, **1902**.
32. Michaelis & Fleischmann, Ueber Bindungsverhältnisse zwischen Präzipitin und präzipitabler Substanz. Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther., Bd. 1, **1905**.
33. Welsh & Chapmann, Journ. of. Path. and Bact., Vol. 13, **1909**; Journ. of Hyg., **1910**; Zeitschr. f. Immunitätsf., **1911**.
34. Arrhenius, Immunochemie. Leipzig, Akad. Verlagsges., **1907**.

Präzipitinogen.

35. Winterberg, Untersuchungen über das Typhus-Agglutinin und die agglutinierbare Substanz der Typhusbacillen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 32, **1899**.
36. Brieger & Mayer, Ueber die Darstellung einer spezifisch wirkenden Substanz aus Typhusbacillen. Dtsche med. Wochenschr., **1903**, Nr. 18.
Brieger & Schütze, Ueber die Darstellung einer spezifisch wirkenden Substanz aus Typhusbacillen. Dtsche med. Wochenschr., **1902**, 477.
37. Kraus & Joachim, Ueber Beziehungen der präzipitinogenen Substanz zum Agglutinogen der Bakterien. Centralbl. f. Bakt., **1904**.
37[a]. Levaditi & Muttermilch, Compt. rend. de la soc. de Biol., T. 64, 65, **1908**
38. Leclainche & Vallée, Notes sur les anticorps albumineux. Compt. rend. de la soc. de biol., **1901**, janv.; La sémaine méd., **1901**, Nr. 4.
39. Dieudonne, Beiträge zum biologischen Nachweis von Menschenblut. Münch. med. Wochenschr., **1901**, Nr. 14.
40. Mertens, Ein biologischer Nachweis für die Herkunft des Albumins im Nephritisharn aus dem Blute. Dtsche med. Wochenschr., **1901**, Nr. 11.
41. Zülzer, Zur Frage der biologischen Reaktion auf Eiweiß. Dtsche med. Wochenschrift, **1901**, Nr. 14.
42. Schütze, Weitere Beiträge zum Nachweise verschiedener Eiweißarten auf biolog. Wege. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 38, **1901**.
43. Přibram, E., Ueber die Schwankungen der Präzipitinreaktion im normalen und pathologischen Serum. Zeitschr. f. exper. Path. u. Ther., Bd. 3, **1906**.
44. Engel, Ueber einen Versuch, mit Hilfe des Blutserums Carcinomatöser einen Antikörper herzustellen. Dtsche med. Wochenschr., **1903**; Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 54.
45, Kullmann, Ueber Hämolyse durch Carcinomextrakte. Berl. klin. Wochenschr., **1904**; Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 53.
46. Löffler; Ueber ein neues Verfahren zur Gewinnung von Antikörpern. Dtsche med. Wochenschr., **1904**.
47. Maragliano, Berl. klin. Wochenschr., Rif. med., **1907**, zit. nach Uhlenhuth.
48. Romke, zit. nach Lewin, 210.
49. Ranzi, Untersuchungen über antigene Eigenschaften der Tumoren. Arch. f. klin. Chir., **1908**.
50. Serafini & Diez, Giorn. R. Acad. Med., **1907**, zit. nach Uhlenhuth.
51. Kelling, Ueber die Blutserumreaktion der Carcinomatosen. Berl. klin. Wochenschrift, **1905**.
52. v. Dungerg, Ueber die Kellingsche Carcinomtheorie. Münch. med. Wochenschrift, **1906**.
52[a]. Raubitschek, Verhandlungen der deutschen patholog. Gesellsch., **1910**, S. 273.
53. Michaelis & Oppenheimer, Ueber Immunität gegen Eiweißkörper. Arch. f. Anat. u. Phys., **1902**.
53[a]. Wissmann, Gräfes Archiv, Bd. 71, **1909**.
54. Sacconaghi, Ueber die Präzipitine der Verdauungsprodukte. Zeitschr. f. klin. Med., **1903**.
55. Ide, Ueber Antikörper des chemisch reinen Eiweißes. Fortschr. d. Med., **1901**, Bd. 19.
— Hémolyse et antihémoglobine. La Cellule, T. 20, **1902**.
56. Bashford, zit. nach Uhlenhuth.
57. Levene, On the biological relationship of proteid. Med. news (New York), Vol. 40, 981—982; Dtsche med. Wochenschr., **1903**.

58. Pozerska, Compt. rend. de la soc. de biol., **1911**.
59. Franceschelli, Die Wirkung der Autolyse auf das Leberpräzipitinogen. Arch. f. Hyg., Bd. 47, **1909**.
60. Landsteiner & v. Eisler, Ueber die Präzipitinreaktionen des menschlichen Harns. Wien. klin. Rundschau, **1903**.
61. Friedenthal, Arch. f. Anat. u. Physiol., **1900**. Sitzungsber. d. K. preuß. Akad. d. Wissensch. Berlin, Bd. 35.
62. Friedemann & Isaac, Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therapie, **1907**.
63. Klein, A., Zur Frage der Antikörperbildung. Wien. klin. Wochenschr., **1902**.
64. v. Riegler, Oesterr. Chemikerzeitung, **1902**.
65. Löwenstein, Ueber die Bedeutung der cellulären Immunität. Prag. med. Wochenschr., **1901**, 374.
66. Wilenko, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 5.
67. Magnus & Friedenthal, Ein exper. Nachweis natürlicher Verwandtschaft bei Pflanzen. Ber. d. Deutsch. Bot. Gesellsch., Bd. 24, **1906**.
68. Wells & Osborne, The Biological Reactions of the vegetable Proteins. The Journ. of Inf. Dis., Vol. 8, **1911**.
69. Gasis, Berl. klin. Wochenschr., **1908**.
69[a]. Relander, Centralbl. f. Bakt., Bd. 20.
69[b]. Wendelstadt & Fellmer, Zeitschr. f. Immunitätsf., **1910**.
70. Hausmann, Hofmeisters Beiträge z. chem. Phys. u. Pathol., **1902**.
71. Eisenberg, Beiträge zur Kenntnis der spezifischen Präzipitationsvorgänge. Bull. acad. d. soc. biol., **1902**, mai.
— Untersuchungen über spezifische Präzipitationsvorgänge. Centralbl. f. Bakt., **1902**.
72. Graham, Smith, The Biological or Praecipitin Fest for Blood considered manly from its medico-legal aspect. Journ. of Hyg., Vol. 3, **1903**.
73. Schmidt, W. A., Bioch. Zeitschr., Bd. 14, 24; Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 13, **1912**.
74. Biondi, Beitrag zum Studium der biologischen Methode für die spezifische Diagnose des Blutes. Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Medizin u. öffentl. Sanitätsw., 3. Folge, Bd. 23, **1902**.
75. Modica, zit. nach Uhlenhuth.
76. Uhlenhuth & Beeumér, zit. nach Uhlenhuth.
77. Nuttall, s. Monographie.
78. Ferrai, Sulla diagnosi specif. del sangue. Col metodo biologico in medicino legale. Boll. della R. ac. med. de Genova, **1901**, Nr. 7.
79. Löffler, zit. nach Uhlenhuth.
79[a]. Weidanz & Borchmann, zit. nach Uhlenhuth.
80. Eisenberg & Volk, Untersuchungen über Agglutination. Zeitschr. f. Hyg., **1902**, 155.
81. Porges, Ueber den Einfluß des Bakterienproteins auf die Agglutination und Präzipitation. Zeitschr. f. exper. Path. u. Ther., **1905**.
— Ueber Kolloide und Lipoide in ihrer Beziehung zur Immunitätslehre. Handb. d. Techn. u. Method. d. Immunitätsf. Kraus-Levaditi, Bd. 1.

Präzipitine.

82. Bail & Weil, Centralbl. f. Bakt., Bd. 40, **1906**.
83. Hocke, Ueber Bakterienpräzipitin durch normale Sera. Wien. klin. Wochenschr., **1907**.
84. v. Eisler, Ueber Bakterienpräzipitine. Handb. d. Tech. u. Meth. d. Immunitätsf. Kraus-Levaditi Handb., Bd. 2.
85. Bail & Hoke, Arch. f. Hyg., Bd. 44.
86. Kraus & Levaditi, Sur l'origine des précipitines. Compt. rend. des séances de l'acad. des sciences, **1904**.
86[a]. Cantacuzène, Ann. de l'Inst. Past., **1908**.
87. Hellin, zit. nach Diss. Lau.
88. Landsteiner & Raubitschek, Biochem. Zeitschr., Bd. 15.
89. v. Eisler & v. Portheim, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1.
90. Ascoli, M., Zur Kenntnis der Präzipitinwirkung des Blutserums. Münch. med. Wochenschr., **1902**.
— Ueber den Mechanismus der Albuminurie des Eiweißes. Münch. med. Wochenschrift, **1902**.
— Neue Tatsachen und neue Ausblicke in der Lehre der Ernährung. Münch. med. Wochenschr., **1903**.

91. Hamburger & Moro, Ueber die biologisch nachweisbaren Veränderungen des menschlichen Blutes nach der Seruminjektion. Wiener klin. Wochenschr., **1903**, Nr. 15.

91[a]. Moro, Biologische Beziehungen zwischen Milch und Serum. Wien. klin. Wochenschrift, **1901**.
—, Kuhmilchpräzipitin im Blute eines $4^1/_2$ Monate alten Atrophikers. Münch. med. Wochenschr., **1906**.
— Weitere Untersuchung über Kuhmilchpräzipitin im Säuglingsblute. Münch. med. Wochenschr., **1906**.

92. Centanni, Ueber Autopräzipitine und über eine allgemeine Form derselben. Centralbl. f. Bakt., **1903**.

93. Ascoli, M., Autoprecipitine. Communic. alla soc. med. chir. di Pavia, **1903**.

94. Hamburger, Biolog. über die Eiweißkörper der Kuhmilch und über Säuglingsernährung. Wien. klin. Wochenschr., **1900**.
— Zur Frage der Immunisierung gegen Eiweiß. Wien. klin. Wochenschr., **1902**.
— Arteigenheit und Assimilation. Wien, Deuticke, **1903**.
— Biologisches über Säuglingsernährung. Münch. med. Wochenschr., **1907**.

94[a]. Cantacuzène, C. R. de la Soc. de Biol., **1907**.

95. Ganghofner & Langer, Ueber die Resorption genuiner Eiweißkörper im Magendarmkanal neugeborener Tiere und Säuglinge. Münch. med. Wochenschrift, **1904**.

96. Ascoli & Bonfanti, Weitere Untersuchungen über alimentäre Albuminurie. Münch. med. Wochenschr., **1903**.

97. Hamburger & Sperk, Biologische Untersuchungen über Eiweißresorption und Darm. Wien. klin. Wochenschr., **1904**.

98. Fornet & Müller, Praktische und theoretische Präzipitinuntersuchungen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 66, **1910**.

99. Bonhoff & Tsuzuki, Ueber die Schnellimmunisierungsmethode von Fornet & Müller. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, **1909**.

100. Miessner & Trapp, Die Komplementbindung bei Rotz und ihre Beziehung zur Syphilisreaktion. Centralbl. f. Bakt., Bd. 52, **1909**.

101. Wiedenmann, Ueber die aktive Immunisierung von Kaninchen gegen Drusestreptokokken. Inaug.-Diss. Bern **1909**, zit. nach Fornet.

101[a]. Toyosumi, Fol. serolog., Bd. 3, **1909**.

102. Klein, A., Ueber Resultate von Immunisierungen mit getrennten Bestandteilen des Blutes. Wien. klin. Rundschau, **1904**.
— Ueber Erythropräzipitin und andere Immunprodukte einzelner Bestandteile des Blutes. Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, **1905**.
— Ueber die Spezifizität der Erythropräzipitation. Wien. klin. Wochenschr., **1905**.

102[a]. Leers, O., Centralbl. f. Bakt., Bd. 54, H. 5.

103. Weichardt & Liepmann, Hyg. Rundschau, **1903**.

104. Forssner, Ueber die Möglichkeit, isolierte Eiweißkörper bezw. eiweißhaltige Flüssigkeiten usw. Münch. med. Wochenschr., **1905**.

105. Pfeiffer, H., Wien. klin. Woch., **1905**; Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 8, **1910**.

105[a]. Strzygowski, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 66.

106. Brezina, Ueber Spezifizität des Kotes und die Unterscheidung verschiedener Kotarten auf biologischem Wege. Wien. klin. Wochenschr., **1907**.

107. Russ, Ueber das Schicksal des Bakterienpräzipitinogens im Organismus. Centralbl. f. Bakt., Bd. 43, **1907**.

108. Kraus & Schiffmann, Sur l'origine des anticorps, précipitines et agglutinines. Ann. de l'Inst. Pasteur, **1906**.

109. Cantacuzène, Recherches sur l'origine des précipitines. Ann. de l'Inst. Pasteur, **1908**.

110. Rostoski, Zur Kenntnis der Präzipitine. Würzburg, Hubert, **1902**.

111. Umber, Zur Chemie und Biologie der Eiweißkörper. Berl. klin. Wochenschr., **1902**.

112. Landsteiner & Calvo, Zur Kenntnis der Reaktionen des normalen Pferdeserums. Centralbl. f. Bakt., Bd. 31, **1902**.

113. Beljaeff, Ueber die Bedingungen der Bildung spezifischer Krausscher Niederschläge. Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, 629.

114. Bail, Arch. f. Hyg., **1902**.

115. Kraus & Eisenberg, Ueber Immunisierung mit Immunsubstanzen. Centralbl. f. Bakt., **1902**, Nr. 5.

116. Hamburger & Dehne, Wien. klin. Wochenschr., **1904**.
117. Sacharoff, Centralbl. f. Bakt., 19.
118. Kraus & Přibram, Centralbl. f. Bakt., Bd. 39, **1905**.
119. v. Eisler & Tsuru, Ueber den Zusammenhang zwischen Präzipitinogen und Antikörper. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, **1910**.
119[a]. Landsteiner & Prasek, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10.
120. Hamburger, Folia haematol., Vol. 5.
121. Hauser, Ueber die Leistungsfähigkeit der Uhlenhuthschen serodiagnostischen Verfahrens bei Anwendung der Kapillarmethode. Festschrift f. G. Rosenthal, **1906**.
122. Carnwath, Zur Technik der Untersuchung kleinster Blutspuren. Arb. aus d. Kais. Gesundh.-Amt, Bd. 27, **1907**.
123. Amiradzibi & Kaczynski, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6.
124. Welsh & Chapmann, l. c.
125. Michaelis & Fleischmann, Ueber Bindungsverhältnisse zwischen Präzipitin und präzipitabler Substanz. Zeitschr. f. exper. Path. u. Ther., Bd. 1, **1905**.
— Die Formulierung der Präzipitinreaktion von Hamburger & Arrhenius. Bioch. Zeitschr., Bd. 3, **1907**.
125[a]. Franceschelli, Arch. f. Hyg., **1909**.
126. Arrhenius, Zeitschr. f. Elektrochemie, Bd. 13, **1904**.
— & Hamburger, On the natur of precipinnaet. Koninklijke Akad. van Wetenschappen te Amsterdam, **1906**.
127. Biltz, Chemiker Zeitung, **1903**; Ber. d. deutschen chem. Ges., **1904**; Zeitschr. f. Elektrochemie, **1904**; Zeitschr. f. physik. Chemie, **1904**.
128. Neisser & Friedemann, Studien über Ausflockungserscheinungen. Münch. med. Wochenschr., **1904**.
129. Bechold, Die Ausflockung von Suspensionen bezw. Kolloiden und die Bakterienagglutination. Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 48, **1904**.
130. Landsteiner & Jagič, Ueber Analogien der Wirkungen kolloidaler Kieselsäure mit den Reaktionen der Immunkörper und verwandter Stoffe. Münch. med. Wochenschr., **1903/1904**.
— Ueber Reaktionen anorg. Kolloide und Immunkörperreaktion. Münch. med. Wochenschr., **1904**.
131. Zangger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1.
132. Zupnik, Ueber gattungsspezifische Immunitätsreaktionen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 49, **1905**.

Verwertbarkeit der Präzipitine zur Diagnose der Krankheiten und Bakterien.

133. Bonome, Centralbl. f. Bakt., **1907**.
133[a]. Calmette & Massol, Rév. vétér. Ann. 35.
133[b]. Finzi, C. r. de la soc. de biol., T. 68.
134. Wladimiroff, Handb. d. Technik u. Methodik d. Immunitätsf. Ergänzungsband.
135. Ascoli, A., Die Präzipitindiagn. d. Milzbrandes. Centralbl. f. Bakt., Bd. 58, **1910**; Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 11. — W. Pfeiler, Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde, **1912**. Hier auch ausführliche Literaturangaben.
136. Vincent & Bellot, Bull. soc. med. des hôp., **1909**.
137. Lemoine, Bull. soc. med. des hôp., **1909**.
138. Letulle & Lagane, Compt. rend. de la soc. de biol., **1909**.
139. Salebert, Bull. soc. med. des hôp., **1909**.
140. v. Eisler, Ueber Bakterienpräzipitine. Handb. d. Techn. u. Meth. d. Immunitätsf. Kraus-Levaditi, **1909**.
141. Noris, C., The bacterial precipitins. The Journal of infectious diseases, **1904**, Vol. 1, Nr. 3.
142. v. Eisler & Porges, Ueber die Differenzierung der Kapselbakterien mittels Agglutination und Präzipitation. Centralbl. f. Bakt., **1906**.
143. Ruppel & Rickmann, Ueber Tuberkuloseserum. Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 6, **1910**.
143[a]. Neufeld, Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk., Bd. 36.
144. Kitayama, Eine neue Reaktion über Tuberkuloseserum. Mitt. d. med. Gesellsch. zu Tokio, Bd. 16, **1902**.
145. Markl, Zur Agglutination der Pestbacillus. Centralbl. f. Bakt., Bd. 21, **1901**.
146. Schwoner, J., Ueber Differenzierung der Diphtheriebacillen durch Agglutination. Wien. klin. Wochenschr., **1902**, Nr. 48.
— Ein Beitrag zur Kenntnis der Pseudodiphtheriebacillen. Wien. klin. Wochenschrift, **1903**.

147. Wassermann, Ueber Agglutinine und Präzipitine. Zeitschr. f. Hyg., **1902**.
— Zeitschr. f. Hyg., Bd. 42, **1903**.
— Ueber eine neue Art von Diphtherieserum. Dtsche med. Wochenschr., **1902**, 785.
148. Dopter, Bull. de l'Inst. Pasteur, **1906**.
149. Neufeld, Ueber die Agglutination der Pneumokokken und über die Theorien der Agglutination. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 46, **1902**.
150. Panichi, Centralbl. f. Bakt., Bd. 43.
151. Heyrowsky, Ein Beitrag zur Biologie und Agglutination des Diplococcus pneumoniae. Centralbl. f. Bakt., **1905**.
152. Marmorek, zit. nach Tchistovitch, Annales Pasteur, **1899**.
153. Aronson, Untersuchungen über Streptokokken- und Antistreptokokkenserum. Berl. klin. Wochenschr., **1902**, 979.
154. Schütze, Ueber weitere Anwendung der Präzipitine. Dtsche med. Wochenschr., **1902**, 804.
— Zur Frage der Differenzierung einzelner Hefearten mittels Agglutination. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 44, **1903**.
155. Mayer, M., Experimentelle Beiträge zur Trypanosomeninfektion. Zeitschr. f. exper. Path. u. Ther., **1905**, Heft 3
156. Flekseder & v. Steyskal, Wien. klin. Wochenschr., **1904**.
157. Langer, J., Münch. med. Wochenschr., **1906**, Nr. 52.